

## Newcastle病 바이러스 감염에 의한 免疫反應抑制

全北大學校 附設醫科學 研究所 및

全北大學校 醫科大學 微生物學教室

金 煥 鍾 · 河 大 有

=Abstract=

### Depression of Immune Response by Newcastle Disease Virus Infection

Hwan-Jong Kim, M.D., Tai-You Ha, M.D.

*Institute for Medical Science, Jeonbuk National University and Department of  
Microbiology Jeonbuk National University Medical School*

The immunosuppressive activity of newcastle disease virus (NDV) and some possible role of interferon(C-IF) in viral suppression of immune response were evaluated by SRBC-induced delayed-type hypersensitivity(DTH), rosette formation in spleen cells, number of lymphocytes in peripheral blood, hemagglutinin and hemolysin response to SRBC in ICR mice sensitized with SRBC.

When NDV was inoculated before or after sensitization of mouse with SRBC, virus caused a marked inhibition of DTH, and its depressive effect was dependent on the time of virus inoculation in relation to SRBC sensitization or challenge.

Rosette formation of spleen cells was significantly reduced by NDV infection. The degree of the depression of rosette formation was more prominent in mice inoculated before sensitization than after sensitization and could be related to the amount of serum interferon induced by the virus.

Humoral response to SRBC of virus infected mouse was significantly depressed when NDV was inoculated 24 or 48 hours before sensitization. However, there was no difference in the response when the virus was inoculated 9 hour before and at the same time of sensitization or even after that.

Lymphocytes in peripheral blood of mice were markedly diminished in numbers when NDV was inoculated 48 and 24 hour before sensitization with SRBC, but they were slightly augmented when the virus was inoculated 9 hour before and at the same time of sensitization.

When UV-inactivated or heat-inactivated NDV was injected to the mouse at the same time of sensitization with SRBC, DTH and rosette formation of spleen cells were slightly depressed.

DTH and rosette formation in mice treated with crude-IF were generally depressed as compared with those of control mice.

\* 本論文의 要旨은 1978年 4月 21日 第41次 大韓微生物學會 春季學術大會에서 發表하였음.

These studies suggest that the NDV causes a significant depression of cell-mediated immunity, whereas the humoral immune response is not inhibited markedly, and that the depression of immune response by NDV infection may be caused by interferon produced by NDV and direct viral activity.

## 緒 論

바이러스 감염期間에 細胞性免疫反應(CHI)이 暫定的으로 減少된다고 1907年 Von Pirquet<sup>1)</sup>가 報告한 以來 많은 學者에 依하여 newcastle病 바이러스(NDV)<sup>2-5)</sup>, 紅痘바이러스<sup>6)</sup>, 毒感바이러스<sup>7)</sup>, 肝炎바이러스<sup>8)</sup>, 白血病바이러스<sup>9)-10)</sup>, 腫瘍바이러스<sup>11)</sup> 等 여러 바이러스 感染에 依하여 CMI 뿐만 아니라 體液性免疫反應이 抑制된다는 報告가 蓄積되고 있다. 그러나 아직도 바이러스에 依한 免疫反應의 抑制機轉은 말할 것도 없고 免疫反應을 抑制하는 程度도 確實히 밝혀져 있지 않다.

NDV는 主로 鳥類의 呼吸器, 中樞神經, 消化器 등에 疾病을 일으키며, 사람에게는 鳥類의 接觸에 依하여 結膜炎, 淋巴管炎 等을 일으키는 典型的인 paramyxovirus이다. 이 NDV는 interferon 生産能이 强하기 때문에 바이러스 感染에 關한 實驗 model로 廣範圍하게 利用되고 있다<sup>2-5, 12-14)</sup>.

따라서 著者는 바이러스 感染時 免疫反應抑制 機轉과 抑制程度를 把握할 수 있다면 바이러스 感染의 pathogenesis는 勿論 正確한 豫防, 診斷, 그리고 治療에 도움이 되리라고 思料되어 이를 究明하고자 NDV를 使用하여 本 實驗을 實施하였으며 몇 가지 興味있는 成績을 얻었기에 그 結果를 提示하고자 한다.

## 實驗材料 및 方法

**實驗動物** : 本 全北醫大微生物學 敎室 飼育室에서 繁殖飼育한 體重 15~20gm의 ICR 마우스를 雌雄 區別 없이 實驗에 使用하였다.

**바이러스** : 本 實驗에서는 孵化鷄卵에 培養한 newcastle病 바이러스 vaccine(Hitchner B<sub>1</sub>, live virus, L-NDV, 綠十字社)을 Dulbecco 磷酸緩衝食鹽液(PBS, pH 7.2)으로  $5 \times 10^6 \text{EID}_{50}/\text{ml}$ 의 濃度로 稀釋하여 使用하였다. 한편 L-NDV의 不活化바이러스를 使用한 때도 있었는 바 L-NDV의 不活化는 加溫 및 紫外線照射에 依해 實施하였다. 加溫不活化는 L-NDV 浮遊液을 56°C에서 4時間 加溫하여 實施하였고 紫外

線照射에 依한 不活化는 L-NDV 浮遊液을 紫外線에 20cm 距離에서 10分間 照射하여 實施하였다. 前者를 加溫不活化바이러스(H-NDV), 後者를 紫外線照射不活化바이러스(UV-NDV)라고 하였다.

**粗製 Interferon** : De Mayer 等<sup>15)</sup>의 成績을 參照하여 製作하였는데 簡記하면 다음과 같다. 即 5匹의 ICR 마우스에 L-NDV를  $10^6 \text{EID}_{50}/\text{mouse}$ 의 濃度로 尾靜脈內로 接種한 다음 9時間 後에 이들 接種마우스로부터 全採血하여 血清을 分離, 混合(pooling)한 것을 粗製 interferon (C-IF)라 看做하였으며, 이와 같이 얻은 C-IF를 56°C에서 30分間 非動化시킨 것을 加溫不活化粗製 interferon(C-IFh)라 看做하여 使用하였다.

**抗原** : 本 實驗에서는 緬羊赤血球(SRBC)를 抗原으로 使用하였는데, SRBC는 雌性緬羊의 頸靜脈으로부터 헤파린을 加한 注射器로 採血한 後 同量의 Alsevers氏液(pH 6.1)을 加하여 4°C에 保存하면서 1週日 以內에 使用하였다. 保存中인 SRBC를 使用할 때는 使用直前에 PBS로 3回 遠心洗滌하여 實驗에 適切한 濃度로 浮遊하여 使用하였다.

**免疫** : 遠心洗滌한 SRBC를 Mackannes 等<sup>16)</sup> 및 河等<sup>17)</sup>의 成績을 參照하여 PBS에  $10^7 \text{SRBC}/\text{ml}$ 의 濃度로 浮遊하고 浮遊液 0.1ml( $10^6 \text{SRBC}$ )를 마우스의 尾靜脈內로 注射하여 免疫하였다.

**바이러스의 接種** : 바이러스의 接種時間에 따라 마우스를 各群 5匹씩 10個群으로 나누어 L-NDV를 各 마우스당 0.2ml( $10^6 \text{EID}_{50}$ )씩 尾靜脈內로 徐徐히 注射하였다. 各群의 L-NDV 接種時間은 SRBC로 마우스를 免疫하기 前 48, 24, 9時間, 免疫과 同時 또는 免疫한 後 48, 60, 80, 88, 92 또는 94時間으로 하였다. 한편 L-NDV 以外에도 不活化바이러스를 接種한 때도 있었는데 不活化바이러스의 接種은 SRBC로 免疫과 同時에 實施하였다.

**定腫腫脹反應檢査(FST)** : 遲延性過敏反應(DTH)을 測定하기 爲하여 FST를 河<sup>18)</sup>가 記述한 方法에 爲하여 實施하였다. 簡記하면 SRBC로 免疫한 4日 後 各 마우스의 左側後肢足趾의 皮內에 SRBC 浮遊液 0.05ml( $10^6 \text{SRBC}$ )를, 右側後肢足趾의 皮內에 對照로 PBS를 0.05ml 注入하여 24時間 後에 左右肢足趾의 腫脹程度를

micrometer caliper(Matheson Scientific Co., Chicago, Illinois, U.S.A)로測定比較하였다. 腫脹程度의測定은主觀的介入을避하기 위하여2인이測定한數値를平均하였다. FST를完了한直後各마우스로부터末梢循環淋巴球의數및脾臟細胞의로제形成能을測定하였으며同時に各마우스의血清內SRBC에對한凝集素및溶血素力價를測定하였다.

**末梢循環淋巴球數의測定:** 마우스의尾最末端으로부터1cm部位를銳利한칼로切斷하여흐르는末梢血液을白血球稀釋用피펫으로吸入하여血球計算板上에稀釋滴下한다음白血球總數를測定함과同時に末梢血液을哨子板에塗抹하고Giemsa染色하여淋巴球百分率를求한後白血球總數와淋巴球百分率를 곱하여循環血液淋巴球의數를計算하였다.

**脾臟細胞浮遊液:**脾臟細胞浮遊液은各마우스를犧牲시키고脾臟을摘出하여Hanks balanced salt solution(HBSS)에조심스럽게teasing하고nylon mesh로濾過하여死細胞塊를除去하였으며寒冷HBSS로4°C에서遠心洗滌하였다. 그後脾臟細胞를 $1.2 \times 10^7$ 細胞/ml가 되도록HBSS에浮遊하였다. 每實驗 때마다脾臟細胞의viability test를實施하였는데이檢査는tryphan blue dye exclusion method로實施하였다.

**로제形成細胞(RFC)의檢査:**脾臟細胞의RFC檢査를河<sup>9)</sup>가記述한方法에準하여實施하였는데簡記하면다음과같다. 即3回遠心洗滌하여HBSS에浮遊한脾臟細胞浮遊液0.5ml( $6 \times 10^6$ 細胞)와SRBC浮遊液0.5ml( $1.8 \times 10^8$ 細胞)를混合하여200G로10分間遠心한다음4°C에30分間放置하였다. 그後여기에0.3% methylene blue液1滴을添加하여조심스럽게흔들어서再浮遊시켰다. 이再浮遊液1滴을血球計算板上에떨어뜨리고RFC를檢鏡觀察하였다. 檢鏡時脾臟細胞에SRBC가3個以上附着한細胞를RFC로判定하였으며로제形成率(RFR)은다음式에準하여計算하였다.

$$RFR = \frac{\text{No. of rosette forming cells}}{\text{Total cell counted} \times \% \text{ viability}} \times 100$$

**赤血球凝集素價의測定:**SRBC에對한凝集素價를microtitration tray(Limbro Chemical Co., Inc, New Haven, Connecticut)를使用하여다음과같이實施하였다. 簡記하면各마우스로부터얻은個個血清을56°C에서30分間非働化시킨다음各well에veronal buffer(pH 7.2)로2倍系列稀釋한血清0.025ml와HBSS에浮遊한0.5% SRBC液0.05ml를 잘混合

한後37°C, 78時間放置하여赤血球凝集類型을觀察判讀하였으며,凝集을일으키는血清의最高稀釋度를그血清의抗體價로하였다.

**溶血素力價測定:**SRBC의量,血清의稀釋은凝集素力價測定時와同一하게實施하였으며,SRBC와稀釋血清이들어있는各well에기니피血清(補體)을20倍로稀釋하여0.025ml씩加한다음37°C에서1時間放置하여溶血與否를觀察하였다. 이때完全溶血을일으키는血清의最高稀釋度를그力價로判讀하였다.

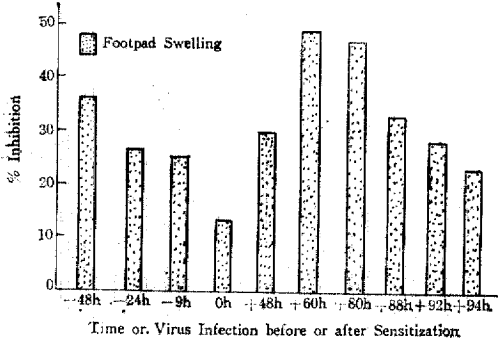
**2-Mercaptoethanol(2-ME)의處理:**各血清의2-ME耐性凝集素및溶血素力價를測定하기爲하여0.15N 2-ME(Eastman Kodak Co., Rochester, N. Y.)로血清을處理하여2-ME耐性抗體를IgG抗體로,2-ME로處理하기前의抗體를IgM抗體(總抗體價 또는2-ME感受性抗體)로判讀하였는데,測定은河<sup>9)</sup>가記述한方法에準하여다음과같이實施하였다. 即血清의2-ME處理는0.15N 2-ME가含有된HBSS로血清을稀釋하여蒸發하지않도록tray를密封하여37°C에30分間放置하여實施하고上記한凝集素및溶血素測定時와同一한手技에따라그力價를測定하였다.

**統計處理:**實驗群當마우스를5匹씩으로하여同一한實驗을적어도2回以上反復하여얻은數値의平均値와標準誤差를求하였으며成績比較의便利上다음과같은術式에依하여對照群에對한實驗群의抑制率로表記한데도있다.

$$\% \text{ Inhibition} = \left( 1 - \frac{\text{Experimental group}}{\text{Control group}} \right) \times 100$$

## 實驗成績

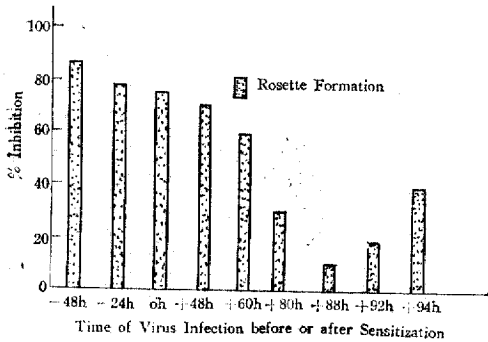
**NDV 감염이 DTH에 미치는影響:**SRBC( $10^8$ 細胞/mouse)를靜脈內注射하여免疫한마우스에免疫前,免疫과同時 또는免疫後에 $10^8 \text{EID}_{50}/\text{mouse}$ 濃度のL-NDV를尾靜脈內로感染시키고免疫後4일에SRBC( $10^8$ 細胞/mouse)를後肢足蹠反內에challenge하여24時間後에足蹠腫脹으로發現되는DTH를測定하였던結果第1圖에서와같이L-NDV에感染된마우스의足蹠腫脹은免疫前48, 24, 9時間 또는免疫과同時에L-NDV를感染시키면對照마우스에比하여各各37.6%, 26.1%, 25.2% 또는12.5%의減少率을보여바이러스感染後抗原注射가遲延되던필수로서抑制程度가甚하였다. 그러나免疫後48, 60, 80, 88, 92 또는94時間에바이러스를感染시킨마우스群에서는對照



**Fig. 1.** Inhibitory effect of newcastle disease virus infection on the SRBC-induced delayed-type hypersensitivity in ICR mice. Mice were infected with live-NDV before(-) or after(+) SRBC sensitization (Time 0) and given a challenge injection 4 days after sensitization. The data obtained from 5 more mice at 24 hour after challenge were computed as follows:

$$\% \text{ Inhibition} = \left(1 - \frac{\text{FS in experimental group}}{\text{FS in control group}}\right) \times 100$$

Abbreviations: FS, footpad swelling



**Fig. 2.** Inhibitory effect of newcastle disease virus infection on the rosette formation of spleen cells in ICR mice. Mice were infected with live-NDV before(-) or after(+) SRBC sensitization (Time 0) and given a challenge injection 4 days after sensitization. The data obtained from 5 or more mice at 24 hour after challenge were computed as follows:

$$\% \text{ inhibition} = \left(1 - \frac{\text{RFC in experimental group}}{\text{RFC in control group}}\right) \times 100$$

Abbreviations: RFC, rosette forming cells.

마우스에 비하여 각각 29.5%, 49.5%, 47.8%, 33.9%, 29.5% 또는 22.4%의 足腫脹抑制率을 보여 免疫後 60時間까지는 免疫前 바이러스를 感染시킨 實驗群에서와 같이 抗原投與과 바이러스感染과의 間隔이

질수록 抑制程度가 甚하였으나 免疫後 80~94時間에 바이러스를 感染시켰을 때는 抗原 challenge와 바이러스感染과의 時間이 짧을수록 漸次 抑制程度가 輕微하였다.

**NDV 感染이 脾臟細胞의 로제트形成에 미치는 影響:** L-NDV를 感染시킨 마우스에서 SRBC에 對한 DTH를 測定한 直後 마우스로부터 脾臟을 摘出하여 脾臟細胞의 RFR을 檢査하였던 바 그 結果는 第2圖에서 보는 바와 같다. 即 脾臟細胞의 RFR은 免疫하기 48 또는 24時間前 또는 免疫과 同時에 L-NDV를 感染시킨 群에서는 對照마우스에 비하여 各各 86.1%, 77.8% 또는 75.6%의 極甚한 減少를 보였다. 한편 免疫後 48, 60 또는 80時間에 바이러스를 感染시킨 群에서는 RFR은 對照마우스에 비하여 各各 69.3%, 57.7% 또는 30.8%의 減少를 보여 免疫後 時間이 經過된 다음 바이러스를 接種시킨 마우스일수록 漸次 그 抑制가 減少되어 免疫後 88時間(challenge前 8時間)에 바이러스를 感染시킨 마우스 群에서는 對照群에 비하여 겨우 7.7%의 減少를 보였다. 그러나 免疫 88時間以後 virus를 感染시킨 마우스群에서는 다시 RFR이 減少하기 始作하여 免疫後 92 또는 94時間에 바이러스를 感染시킨 群에서는 對照群에 비하여 各各 20.0% 또는 38.5%의 抑制를 보였다.

**NDV 感染이 體液性免疫反應에 미치는 影響:** NDV 感染이 體液性免疫反應에 어떠한 影響을 보이는가를 보기 爲하여 SRBC로 免疫한 마우스에 免疫前, 免疫과 同時 또는 免疫後에 L-NDV를 靜脈內로 感染시키고 免疫 4日에 SRBC로 challenge한 다음 24時間 後에 各 마우스로부터 全採血하여 血清을 分離하고 血清內 赤血球凝集素(HA) 및 溶血素(HE) 力價를 測定하였던 바 그 結果는 다음과 같다. 第1表에서 보는 바와 같이 2-ME 感受性 HA力價는 免疫前 48時間에 바이러스를 感染시킨 마우스群에서 對照群에 비하여 力價가 有意한 低下를 보이기 始作하여 免疫前 24時間에 바이러스를 感染시킨 마우스群의 血清에서는 抗體가 거의 檢出되지 않았으나, 免疫 9時間前, 免疫과 同時 또는 免疫後 48~80時間에 바이러스를 感染시킨 마우스群에서는 對照群에 비하여 有意한 抗體價의 減少를 볼 수 없었고 免疫後 88~94時間에 바이러스를 接種한 群에서는 오히려 抗體形成이 促進되었다. 그러나 2-ME 耐性 HA는 免疫前 또는 免疫과 同時에 바이러스를 感染시킨 마우스群에서는 전혀 檢出되지 않았으나 免疫後 바이러스를 感染시킨 群에서는 對照群과 有意한 力價의 差異를 보이지 않았다.

**Table 1.** Effect of NDV infection on hemagglutinin production in ICR mice

Time of virus infection before or after SRBC sensitization(Hours)*	Antibody titres(log2)**	
	Total-HA	MER-HA
Control	2.0±0.31	0.6±0.24
-48	1.0±0.19	0
-24	0.8±0.18	0
-9	3.0±0.21	0
0	1.8±0.20	0
-48	1.5±0.31	0.3±0.66
-60	1.6±1.00	0.2±0.23
-80	1.4±0.36	0.7±0.32
-88	2.4±0.44	0.7±0.18
-92	2.8±0.56	1.6±0.28
-94	3.0±0.46	0.5±0.15

Mice were intravenously sensitized with 10<sup>6</sup> SRBC and given challenge injection with 10<sup>6</sup> SRBC 4 days after sensitization.

\* L-NDV was infected before(-) or after(+) SRBC sensitization(Time 0).

\*\* Each value assayed 24 hour after challenge, represents mean and standard error of 5 determinations.

한편 HE는 第2表에서 보는 바와 같이 2-ME 耐性 또는 感受性 HE 모두 免疫前 48 또는 24時間에 바이러스를 感染시킨 群에서는 對照群에 比하여 顯著히 낮은 力價를 보였으나 免疫前 9時間, 免疫과 同時 또는 免疫後 바이러스를 換染시킨 마우스群에서는 若干 그 力價가 低下되었거나 또는 上昇되어 對照群과 有意한 差異를 보이지 않았다.

不活化 NDV 感染이 마우스의 細胞性免疫反應에 미치는 影響: 바이러스의 免疫抑制機轉을 究明하기 爲한 一連의 實驗으로 SRBC를 靜脈內로 注射하여 免疫한 마우스에 免疫과 同時에 L-NDV, UV-NDV 또는 H-NDV를 10<sup>6</sup>EID<sub>50</sub>/mouse의 濃度로 靜脈內로 注射하고 免疫 4日後에 SRBC(10<sup>6</sup> 細胞)를 마우스 足趾皮內에 challenge하여 24時間 後에 發現된 足趾腫脹을 測定함과 同時에 脾臟細胞의 RFR을 檢査하였던 바 第3圖에서와 같은 成績을 얻었다. 即 足趾腫脹은 바이러스를 接種하차 않은 對照群에 比하여 L-NDV 感染群은 12.5%의 腫脹減少를 보였으나 UV-NDV 接種群은 5.7%의 僅少한 減少를 보였고 H-NDV 接種群은 전혀 腫脹의 增減을 보이지 않아 L-NDV에 比하여 不活化 바이러스

**Table 2.** Effect of NDV infection on the hemolysin production in ICR mice

Time of virus infection before or after SRBC sensitization(Hours)*	Hemolysin titres(log2)**	
	Total-HE	MER-HE
Control	4.7±0.47	1.5±0.50
-48	1.0±0.84	0.3±0.13
-24	0.8±0.42	0.2±0.12
-9	3.8±1.25	1.0±0.18
0	2.5±0.11	1.4±0.24
+48	3.6±0.24	2.0±0.15
+60	3.8±1.06	1.2±0.12
+80	4.0±1.24	1.0±0.54
+88	2.8±0.84	1.7±0.42
+92	3.0±0.75	1.0±0.25
+96	3.5±0.67	1.7±0.26

Mice were intravenously sensitized with 10<sup>6</sup> SRBC and given a challenge injection with 10<sup>6</sup> SRBC 4 days after sensitization

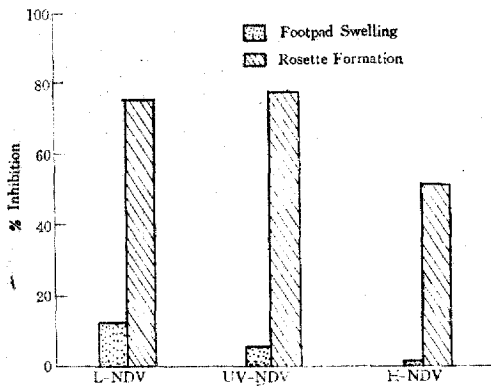
\* L-NDV was infected before(-) or after(+) SRBC sensitization(Time 0).

\*\* Each value, assayed 24 hour after challenge, represents mean and standard error of 5 determinations.

에서는 DTH를 거의 또는 전혀 抑制하지 못하였음을 알 수 있었다. 한편 脾臟細胞의 RFR은 L-NDV 또는 UV-NDV 感染群에서 對照群에 比하여 各各 75.5% 또는 77.8%의 顯著한 減少를 보였으나 L-NDV 接種群은 50.6%의 減少率을 보였다.

NDV 感染이 末梢血液內 淋巴球數에 미치는 影響: 바이러스에 의한 免疫抑制機轉을 究明하기 爲한 間接的인 方法으로 L-NDV를 마우스에 感染시킨 다음 循環末梢 血液內의 淋巴球의 數를 測定하였던 바 第4圖에서와 같이 SRBC로 免疫한 마우스에서의 淋巴球數는 正常마우스에서의 差異를 보이지 않았으나 免疫前 48 또는 24時間에 바이러스를 換染시킨 마우스群에서는 各各 36.7% 또는 48.5%의 顯著한 淋巴球數의 減少를 보였으나 免疫前 9時間 또는 免疫과 同時에 바이러스를 感染시킨 群에서는 오히려 9.2% 또는 20.4% 增加되었다.

C-IF의 投與가 DTH 및 RFR에 미치는 影響: SRBC (10<sup>6</sup> 細胞/mouse)로 免疫한 마우스에 免疫 92時間(challenge 2時間 前) 後에 0.05ml의 C-IF 또는 C-IFh를 尾靜脈內로 投與하고 免疫 4일에 SRBC로 challenge



**Fig. 3.** Effects of live and inactivated-newcastle disease virus on the SRBC-induced delayed-type hypersensitivity and rosette formation of spleen cells in ICR mice. Mice were sensitized with  $10^6$  SRBC intravenously and injected with NDV at the same time, followed by challenge 4 days after that. The data obtained from 5 mice at 24 hours after challenge were computed as follows:

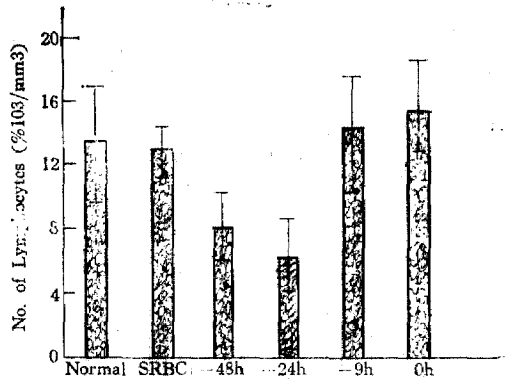
$$\% \text{ inhibition} = \left(1 - \frac{\text{FS or RFC in experimental group}}{\text{FS or RFC in control group}}\right) \times 100$$

Abbreviations: L-NDV, Live-NDV; UV-NDV, UV-inactivated NDV; H-NDV, inactivated NDV; FS, footpad swelling; RFC, rosette forming cells.

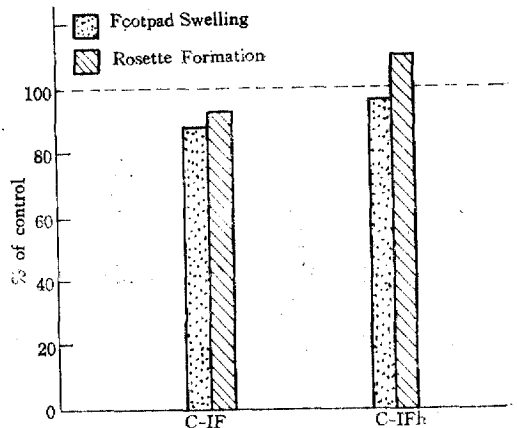
하여 24시간 후에 FST와 RFC의 측정을 하였던 바 그 결과는 第5圖에서 보는 바와 같다. 即 足腫脹은 C-IF 또는 C-IFh 投與群에서 正常마우스 血清投與 對照群에 比하여 各各 12.0% 또는 10.2%의 顯著한 腫脹 減少의 結果를 示하였지만 C-IF 投與群과 C-IFh 投與群間에는 有意한 差異를 보이지 않았다. 그러나 脾臟細胞의 RFR은 正常마우스 血清投與對照群에 比하여 C-IF 投與群에서는 8.8%의 減少를 보였으나 C-IFh 投與群에서는 오히려 9.6%의 增加를 보였다.

### 考 按

마이크스 특히 NDV 感染은 宿主의 免疫反應을 抑制한다는 많은 報告<sup>2-5)</sup>가 있으며 그 抑制機轉에 關係서도 意見이 區區하다. 따라서 著者는 이 抑制程度를 確認하고 그 機轉을 追究하기 爲하여 마우스에 主로 T細胞依存性抗原인 SRBC<sup>17)</sup>로 免疫하고 SRBC로



**Fig. 4.** Effect of NDV infection on the number of lymphocytes in peripheral blood of mice. Five groups of ICR mice were sensitized with SRBC. Four of those had been inoculated intravenously with  $10^6$  EID<sub>50</sub> of NDV at 48, 24, 9 or 0 hour before sensitization respectively and one group of those, sensitized control, received SRBC without NDV injection. All sensitized mice were challenged with SRBC. Vertical bars indicate standard error of the mean obtained from 5 mice. Abbreviations: Normal, unsensitized control; SRBC, sensitized control.



**Fig. 5.** Effect of C-IF on SRBC-induced delayed-type hypersensitivity and rosette formation of spleen cells in mice. Mice were sensitized intravenously with  $10^6$  SRBC followed by challenge 4 days after that. C-IF induced by NDV was injected into mice intravenously 2 hours before challenge. Each group included five mice. The data obtained 24 hours after challenge were normalized to the control values for each group taken as 100%. Abbreviations: C-IF, interferon induced by NDV; C-IFh, heat-inactivated C-IF.

challenge하여 일어나는 免疫反應을 測定比較하였다.

尼薩腫脹反應檢査는 生體內的 細胞性免疫反應을 評價하는데 敏敏하고 特異한 方法으로 널리 使用되고 있으며, SRBC에 對한 DTH는 afferent limb과 efferent limb에 있어서 T細胞에 依據한 現象으로 이의 發現에는 大喰細胞가 關與하며<sup>18)</sup> 바이러스感染으로 因한 DTH의 減少는 바이러스가 T細胞 또는 大喰細胞에 作用하므로써 招來된다는 많은 報告<sup>2,4,5,7,11)</sup>가 있는 反面 바이러스感染으로 產生된 interferon이 DTH 抑制의 主役을 한다는 報告<sup>19-24)</sup>도 있다. 그러나 本實驗에서는 SRBC로 마우스를 免疫하기 前에 NDV를 感染시키거나 SRBC로 免疫한 後 바이러스를 接種하였던 마우스에서 모두 抗原注射와 바이러스接種과의 間隔이 길수록 DTH가 顯著히 抑制되었고(第1圖) UV-NDV 또는 H-NDV 投與群에서 L-NDV 感染群에 比하여 DTH의 減少가 輕微하거나 전혀 認知되지 않았고(第3圖), 또한 비록 그 力價測定은 하지 않았으나 本實驗에 使用한 ICR 마우스가 interferon 產生能이 強한 動物<sup>25)</sup>이라는 點을 勘案하여 C-IF를 interferon으로 看做하여 投與한 群에서의 DTH는 正常마우스 血清을 投與한 對照群에 比하여 顯著히 減少된 結果(第5圖)를 보였다. 따라서 이와 같은 本實驗結果로 類推하여 바이러스感染으로 因한 DTH의 減少는 다음과 같은 몇 가지 機轉이 關與함을 알 수 있다. 即 바이러스感染으로 因한 DTH의 減少는 感染된 바이러스가 感染細胞內에서 거듭 複製되면서 複製時 細胞構成성분을 消耗시켜 細胞에 損傷을 가져오거나 바이러스가 再循環 T細胞(recirculating T cell)에 吸着<sup>26)</sup>됨으로 淋巴球 表面構造를 酵素的으로 修飾(enzymatic modification)하여 T淋巴球의 機能을 變化시키거나<sup>27)</sup> 淋巴球의 traffic<sup>4,27)</sup> 또는 trapping<sup>28,29)</sup>을 變化시키는(第4圖) 등 바이러스가 免疫에 關與하는 細胞에 直接的으로 作用하므로써 DTH가 減少되거나 또는 同時에 바이러스感染으로 因하여 產生된 interferon이 宿主細胞의 mRNA에 作用하여 免疫細胞를 破壞하거나<sup>19,20)</sup> 感作 淋巴球 또는 大喰細胞의 細胞毒성을 增強시키므로써 抗原認識을 遮斷하여<sup>21-23)</sup> DTH가 抑制되었을 것이라 고 思料된다.

Biozzi 等<sup>30)</sup> 및 Wilson 等<sup>31)</sup>은 免疫動物에 있어서 免疫反應에 關與하는 T細胞 B細胞 및 大喰細胞가 모두 로제를 形成하였다고 報告하였으나 正常마우스 脾臟細胞의 SRBC와의 로제形成은 約 66%가 T細胞이고 나머지 34%가 B細胞이었다는 Bach 等<sup>32)</sup>의 報告로 미루어 脾臟細胞의 로제形成檢査는 어느 程度 T細胞

의 測定方法일지도 모른다. 여하튼 本實驗結果 바이러스 感染으로 로제形成能이 顯著히 減少되었는데, 이러한 現象은 L-NDV群과 UV-NDV群과는 로제形成能이 有意한 差異를 보이지 않았으나 이들 群과 H-NDV 接種群과는 顯著한 差異를 보였고(第3圖), 또한 C-IF 投與群에서 對照群에 比하여 볼 때 바이러스感染으로 因한 로제形成率의 減少는 感染된 바이러스의 複製에 影響을 받았다고 보다는 interferon 產生細胞인 effector T cell이 로제形成細胞일 것이라는 Felsburg 等<sup>33)</sup>의 報告로 미루어, 바이러스가 直接的으로 effector T cell에 附着하여 脾臟에로의 homing하는 能力을 低下시켰거나<sup>7,29)</sup> Virion 成分自體의 毒作用으로<sup>26)</sup> 로제形成細胞가 破壞되었거나 또는 interferon이 로제形成細胞의 分化增殖을 抑制하여<sup>24,31)</sup> 結果적으로 脾臟內的 effector T cell의 數를 減少시켜 로제形成率이 減少되었을 可能性도 생각할 수 있으며 한편으로는 바이러스感染으로 產生된 interferon이나 또는 바이러스 自體가 로제形成細胞의 表面構造를 變化시켜<sup>27)</sup> 이들 細胞의 RBC에 對한 receptor가 破壞 또는 不活化됨으로 로제形成率이 減少되었을 可能性도 생각할 수 있다.

또한 本實驗을 통하여 SRBC로 마우스를 免疫하기 前 48 및 24時間에 NDV를 接種하면 赤血球凝集抗體 및 溶血抗體形成에 있어서 T細胞依存性 IgM 抗體 또는 T細胞非依存性 IgG抗體 모두 顯著히 抑制되었으나 免疫前 9時間, 免疫과 同時 또는 免疫後에 NDV를 接種하면 抗體形成은 僅소한 抑制 또는 輕微한 增加를 보여 Svennerholm 等<sup>34)</sup> Gisler<sup>35)</sup>, Virelize 等<sup>36)</sup> 및 Dracott 等<sup>10)</sup>의 成績과 大體로 一致되며 이와 같은 結果는 바이러스의 直接的인 影響을 받았으리라 생각되지만 interferon을 投與하면 生體內 抗體產生 細胞數가 減少된다는 報告<sup>35,37-39)</sup>로 미루어 바이러스 感染으로 產生된 interferon이 主役을 하였을 可能性을 排除할 수 없다. Interferon에 依한 體液性 免疫反應의 抑制는 大喰細胞 또는 T淋巴球에 interferon을 作用시켜도 이들 細胞가 體液性 免疫反應에는 影響을 미치지 않는다는 Gisler 等<sup>35)</sup>의 報告로 미루어 interferon이 直接的으로 B細胞의 分化增殖을 沮止하거나<sup>35,37,40)</sup> 抗原誘發前驅細胞(antigen-triggered precursor cell)의 增殖을 抑制하거나<sup>35)</sup> 免疫關與細胞를 直接破壞하거나 또는 interferon이 免疫關與細胞의 glycolipid 또는 glycolipid樣 物積과 結合하여 plasma membrane을 化學的 物理的 또는 形態學的으로 變化시켜<sup>41-43)</sup> B細胞의 T細胞와의 相互作用을 遮斷하거나<sup>35)</sup> 抗體產生

機能을 低下시켜 體液性 免疫反應의 抑制을 招來하였다고 생각되며 이러한 免疫反應抑制現象은 inductive phase에 바이러스를 接種 하였을 때만 觀察됨을 알수 있었다.

以上 本 實驗結果와 그 結果에 따라 推理可能한 몇 가지 機轉에 關하여 考察하였다. 그러나 바이러스 感染으로 인한 免疫反應의 抑制은 本 實驗結果만으로는 確實히 斷言할 수 없으나 前述한 바와 같이 바이러스의 直接的인 作用 또는 interferon에 依한 作用等 多元的 機轉이 關與됨을 알 수 있어. 더욱 追究하여 불 興味있는 課題라 思料되며 앞으로 複雜多様な 免疫調節 機轉이 究明된다면 바이러스 感染의 正確한 病因이 把握되어 바이러스 疾患의 豫防, 診斷 및 治療를 實施하는 데 크게 寄與되리라 믿는다.

## 要 約

Newcastle病 바이러스(L-NDV)가 ICR 마우스의 細胞性, 體液性 免疫反應에 미치는 影響을 알아보기 爲하여 2-NDV( $10^6$ EID/mouse)를 SRBC( $10^8$  EID<sub>50</sub>/mouse)로 免疫하기 前後 또는 同時에 尾靜脈內로 感染시키고 免疫 4일에 SRBC( $10^8$ 細胞/mouse)를 challenge하여 24時間後에 足趾腫脹反應을 檢査하였으며, 同時에 脾臟細胞의 로제形成能, 末梢循環 血液內의 淋巴球의 數, 그리고 SRBC에 對한 凝集抗體價 및 溶血 抗體價를 測定하였다. 한편 NDV 感染으로 인한 免疫反應 抑制機轉을 究明하기 爲하여 L-NDV를 加溫 不活化하거나(H-NDV), 紫外線에 照射시켜(UV-NDV) 마우스에 投與하거나, L-NDV로 誘導한 마우스粗製 interferon(C-IF)을 投與하여 發現되는 反應을 測定, 比較하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

足趾腫脹反應을 SRBC로 免疫前 또는 免疫後에 L-NDV를 接種한 群에서 모두 抑制되었으며 그 抑制程度는 바이러스 感染과 抗原注射와의 間隔이 길면 길수록 甚하였다. 그러나 UV-NDV나 H-NDV를 接種한 群에서의 足趾腫脹反應은 對照群에 比하여 大體의으로 輕微하거나 전혀 抑制가 認知되지 않았다. 한편 C-IF나 C-IF를 加溫不活化한 C-IFh를 投與한 群에서의 足趾腫脹은 程度의 差異는 있으나 對照群에 比하여 顯著히 減少되었다.

脾臟細胞의 로제形成率은 바이러스 感染으로 顯著히 減少되었는데 그 減少의 程度는 免疫前 또는 免疫과 同時에 바이러스를 接種한 群에서 免疫後 바이러스를 感染시킨 群보다 甚하였다. 한편 UV-NDV나 H-NDV

를 接種한 群에서 脾臟細胞의 로제形成率은 L-NDV 接種群에 比하여 若干 輕微한 減少를 보이거나 또는 비슷한 樣狀을 보여 對照群보다는 顯著히 抑制된 結果를 보였다. 또한 마우스에 C-IF를 投與하면 脾臟細胞의 로제形成率은 抑制되었으나 C-IFh를 投與하면 오히려 로제形成率이 增加되었다.

體液性免疫反應은 免疫前 24 및 48時間에 L-NDV를 接種한 群에서는 顯著히 抑制되었으나, 免疫前 9時間, 免疫과 同時 또는 免疫後에 L-NDV를 接種한 對照群과 有意한 差異를 보이지 않았다.

循環血液內 淋巴球數는 免疫前 48 또는 24時間에 L-NDV를 接種하면 對照群에 比하여 顯著히 減少되었으나, 免疫前 9時間 또는 免疫과 同時에 L-NDV를 接種하면 오히려 그 數가 增加되었다.

以上の 實驗結果 SRBC에 對한 細胞性 免疫反應의 抑制은 NDV가 afferent limb과 efferent limb를 모두 抑制하여 惹起되나 體液性 免疫反應의 抑制은 NDV가 afferent limb만을 抑制하여 일어난을 알 수 있다. 또한 NDV 感染으로 인한 免疫反應抑制은 interferon과 바이러스의 直接的인 作用에 基因됨을 強力히 示唆한다.

## REFERENCES

- 1) Von Pirquet, C.: "Das Verhalten der Kutanen Tuberkulinreaktion während der Mastern". *Deut. Med. Wochen-Schr.* 34: 1297, 1908.
- 2) De Maeyer, E., De Maeyer-Guignard, J., and Vandeputte, M.: *Inhibition by interferon of delayed-type hypersensitivity in the mouse.* *Proc. Nat. Acad. Sci., USA* 72: 1753, 1975.
- 3) Havell, E.A., Berman, B., Ogburn, C.A., Berg, K., Paucher, K., and Vileek, J.: *Two antigenically distinct species of human interferon.* *Proc. Nat. Acad. Sci., USA* 72: 2185, 1975.
- 4) McGregor, D.D., Logie, P.S., and Carmichael, L.E.: *The mediator of cellular immunity VII. Inhibition of activated T cells by new-castle disease virus.* *J. exp. Med.* 144: 627, 1976.
- 5) De Maeyer-Guignard, J., Cachard, A., and De Maeyer, E.: *Delayed-type hypersensitivity to sheep red blood cells: Inhibition of sensitization by interferon.* *Science* 190: 574, 1975.
- 6) 河大有: 紅痘 virus 感染이 Mouse의 免疫反應에 미치는 影響. *中央醫學* 32: 319, 1977.



- 7) Woodruff, J.J., and Woodruff, J.F.: *Influenza A virus interaction with murine lymphocytes I. The influence of influenza virus A/Japan 301(H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) on the pattern of migration of recirculating lymphocytes. J. Immunol. 117 : 852, 1976.*
- 8) Serjeantson, S., and Woodfield, D.C.: *Immune response of leprosy patients to hepatitis B virus. Am. J. Epidemiol. 107 : 321, 1978.*
- 9) Kumar, V., Goldschmidt, L., Eastcott, J.W., and Bennett, M.: *Mechanisms of genetic resistance to Friend virus leukemia in mice IV. Identification of a gene(Fu-3) regulating immunosuppression in vitro, and its distinction from Fu-2 and genes regulating marrow allograft reactivity. J. Exp. Med. 147 : 422, 1978.*
- 10) Dracott, B.N., Wodderburn, N., and Deenhoff, J.J.: *The immunodepressive effect of Friend virus IV. Effects on spleen B lymphocytes. Immunology 34 : 679, 1978.*
- 11) Brody, J.A., Owerfield, T., and Hammes, L.M.: *Depression of the tuberculin reaction by viral vaccines. New Eng. J. Med. 27 : 1294, 1964.*
- 12) Finter, N.B., ed.: *Interferon and interferon inducers. North Holland Research Monographs of Biology. Vol. 2. American Elsevier Publishing Co., New York. 1973.*
- 13) Ho, M., and Armstrong, J.A.: *Interferon. Annu. Rev. Microbiol. 29 : 131, 1975.*
- 14) Jawetz, E., Melnick, J.L., and Adelberg, E.A.: *Review of Medical Microbiology. 13th ed., Lange Medical Publications, p. 421, 1978.*
- 15) Mackness, G.R., Lagrange, P.H., and Ishibashi, T.: *The modifying effect of BCG on the immunological induction of T cells. J. exp. Med. 139 : 1540, 1974.*
- 16) 河大有, 李正鎬: 緬羊赤血球感作量에 遲延性過敏反應과 抗體生産에 미치는 影響. 全北醫大論文集 3 : 95, 1979.
- 17) Lonai, P., and Stinman, L.: *Physiological regulation of antigen binding to T cells: Role of a soluble macrophage factor and of interferon. Proc. Nat. Sci., USA 74 : 5662, 1977.*
- 18) Mitsuoka, A., Termatsu, T., Baba, M., Morikawa, S., and Yasuihare, K.: *Delayed hypersensitivity in mice induced by sensitization with sheep erythrocytes: Evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction. Immunology 34 : 363, 1978.*
- 19) Joklik, W.K., and Willett, H.P., ed.: *Zinsser Microbiology. 16th ed., Appleton-Century-Crofts, New York, p.873, 1976.*
- 20) Rivere, Y., Gresser, I., Guillon, J.G., and Tovey, M.C.: *Inhibition by anti-interferon serum of lymphocytic choriomeningitis virus disease in sucking mice. Proc. Mat. Acad. Sci. USA, 74 : 2135, 1977.*
- 21) Vignaux, F., and Gresser, I.: *Enhanced expression of histocompatibility antibody on interferon-treated mouse embryonic fibroblasts, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., USA, 157 : 456, 1978.*
- 22) Djeu, J.Y., Heinbaugh, J.A., Holden, H.T., and Herberman, R.B.: *Augmentation of mouse natural killer cell activity by interferon and interferon inducers. J. Immunol., 122 : 175, 1979.*
- 23) Lindahl-Magnusson, P., Leary, P., and Gresser, I.: *Interferon inhibits DNA synthesis induced in mouse lymphocyte suspensions by phytohaemagglutinin or by allogeneic cells. Nature(New Biol.) 237 : 120, 1972.*
- 24) Schultz, R.M., Papamatheakis, J.D., and Chirigos, M.A.: *Interferon: an inducer of macrophage activation by polyanions, Science 197 : 674. 1977.*
- 25) Tarr, G.C., Armstrong, J.F., and Ho, M.: *Production of interferon and serum hyperreactivity factor in mice infected with murine cytomegalovirus. Infect. Immun., 19 : 903, 1978.*
- 26) Okunewick, J.P., Meredith, R.F., Frozovich, B., and Weaver, E.V.: *Stimulation of immune response in hybrid mice following rauscher virus infection, Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,*