

## *Corynebacterium parvum*이 마우스의 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響

全北大學校 醫科大學 微生物學教室

河大有·徐潤錫

= Abstract =

### Effect of *Corynebacterium parvum* on Cellular and Humoral Immune Responses in Mice

Tai-You Ha, M.D. and Yoon-Suk Suh, M.D.

Department of Microbiology and Immunology Jeonbuk National University, Medical School  
Jeonbuk, Korea

The effect of subcutaneous injection of *Corynebacterium parvum*(700 $\mu$ g) on cellular and humoral immune responses when given at various time relative to sheep red blood cell(SRBC) sensitization were studied by the evaluation of Arthus, delayed-type hypersensitivity(DTH), rosette forming cell, hemagglutinin and hemolysin reactions.

Arthus reactivity(3 hours) developed in control mice and test mice pretreated with *C. parvum* 8 days prior to intravenous sensitization with SRBC were similar. However, there was slight depression of reactivity when *C. parvum* was given subcutaneously(s.c.) 4 or 2 days prior to SRBC sensitization. Arthus reactivity was significantly depressed when *C. parvum* was given s.c. either at the same time as, or 2 days later than, antigen.

DTH reaction was not depressed significantly when *C. parvum* was injected 8 or 2 days prior to SRBC sensitization or at the same time as antigen. In contrast DTH was significantly augmented when *C. parvum* given s.c. 4 days prior to SRBC sensitization. DTH was depressed when *C. parvum* was given s.c. 2 days after antigen.

No significant change occurred in rosette forming percentages of spleen cell when *C. parvum* was given s.c. 8, 4 or 2 days before SRBC sensitization. In contrast, a significant reduction in percentages of rosette forming cell occurred when *C. parvum* was given s.c. either at the same time as, or 2 days later than, antigen.

Serum hemagglutinin and hemolysin titers were not significantly affected by subcutaneous injection of *C. parvum* regardless of time relative to SRBC sensitization. However, mercaptoethanol-resistant hemagglutinin and hemolysin (IgG) titers were somewhat augmented when *C. parvum* was given 2 days after antigen.

It is concluded from these results that depending on the time and route of inoculation, *C. parvum* can enhance or depress immune responses in mice, suggesting the time and route of *C. parvum* inoculation is an important point of concern about clinical use of *C. parvum* for the treatment of cancer.

### 緒 論

最近 *Propionibacterium acnes*라고 命名된 *Corync-*

*bacterium parvum*은 mononuclear phagocytic system  
을 強力히 剌戟하여 anti-tumor activity를 나타내며<sup>1)</sup>  
細菌<sup>2,3)</sup>, 바이러스<sup>4,5)</sup> 및 寄生虫<sup>6)</sup> 感染으로부터 宿主  
를 保護한다. 뿐만 아니라 最近 *C. parvum*은 T淋差

球依存性 및 非依存性抗原에 對한 免疫補強劑(immunoadjuvant)로 作用하며<sup>7,8)</sup> 一種의 immunomodulator로서 腫瘍研究에 廣範圍하게 利用되고 있으며<sup>9-14)</sup> 臨床의으로 癌의 免疫療法劑로도 使用되고 있다.<sup>15-21)</sup>

*C. parvum*은 上記한 바와 같이 免疫反應을 亢進시키는 反面 mitogen에 對한 淋巴球의 反應, mixed lymphocyte reaction<sup>22)</sup> 및 graft-versus-host reaction<sup>23)</sup>을 低下시키고 picryl chloride에 對한 接觸性過敏反應(CS)을 減少<sup>24)</sup>시키는 等 細胞仲介性反應(CMI)을 低下시킨다. Scott<sup>25)</sup> 및 吳等<sup>26)</sup>은 *C. parvum*을 緬羊赤血球(SRBC)로 免疫하기 前에 마우스에 靜脈注射하면 SRBC에 對한 遲延性過敏反應(DTH)이 減少되었는데, *C. parvum*이 SRBC에 對한 DTH에 미치는 影響은 *C. parvum* 投與時期에 따라 相異하였다고 報告하였으며, Gangemi 등<sup>13)</sup>도 最近 *C. parvum*의 投與時期 및 投與經路에 따라 抗體形成 및 微生物感染에 對한 抵抗을 增加시킬 수 있었다고 報告하였다.

著者는 *C. parvum*의 投與經路 및 投與時期가 *C. parvum*에 依한 免疫調節에 重要な 役割을 하리라고 생각되어 이에 關하여 實驗을 計劃하고 *C. parvum*을 皮下注射하여 處理된 마우스의 rosette 形成細胞反應, Arthus 反應, DTH 反應, 赤血球凝集 및 溶血反應을 測定하여 興味있는 結果를 얻었으므로 그 結果를 報告하고자 한다.

## 實驗材料 및 方法

實驗動物: 體重 約 20 gm의 生後 8~10週된 ICR 마우스를 암수 區別없이 使用하였다.

*C. parvum* 注射: *C. parvum*(Wellcome Research Laboratories Bekenham, England, BR 3 3BS) 浮遊液 0.1 ml(*C. parvum* 700 µg)를 皮下로 1回 注射하였다. *C. parvum* 皮下注射는 SRBC로 免疫하기 前 8, 4 또는 2日, 免疫과 同時, 그리고 免疫後 2日에 實施하였다.

抗原: 抗原으로는 SRBC를 使用하였다. SRBC는 메리노種 緬羊의 頸정맥에서 해파린을 加한 注射器로 採血한 後 同量의 Asever 氏液(pH 6.1)을 加하여 4°C에 保管하여 1週日 以內에 使用하였다. 保管中인 SRBC를 使用할 때는 phosphate-buffered saline(PBS)로 3回 遠心洗滌한 後 SRBC 浮遊液 0.2 ml( $10^8$  cell)를 靜脈注射하였다.

DTH 反應: DTH 反應은 河<sup>27)</sup>가 記述한 足蹠 腫脹 檢査(footpad swelling test, FST) 方法으로 測定하였다. 簡記하면, SRBC로 免疫한 4日後 마우스의 左側後

肢足蹠의 皮下에 SRBC 浮遊液 0.05 ml( $10^8$  cell)를 注射하여 challenge 하였다. 對照는 右側後肢足蹠의 皮下에 滅菌된 PBS 0.05 ml를 注射하였다. 그 後 3時間(Arthus 反應) 및 24時間(DTH 反應)後에 動物의 左右後肢足蹠의 腫脹程度를 micrometer caliper (Matheson Scientific Co, Chicago, Illinois)로 測定하여 5마리 마우스로부터 얻은 各數值를 平均하고 右側後肢足蹠腫脹程度(對照)와 左側後肢足蹠腫脹程度의 差異를 計算하여 比較하였다.

脾臟細胞浮遊液: 마우스를 犠牲시키고 無菌的으로 脾臟을 摘出하여 Hank's balanced salt solution (HBSS)에 조심스럽게 teasing 하고 nylon mesh로 濾過하여 死細胞魂을 除去하였으며, 寒冷 HBSS 4°C에서 遠心洗滌하였다. 그 後 脾臟細胞를  $12 \times 10^7$ /ml가 되도록 浮遊하였다. 그리고 細胞의 生存檢査는 trypan blue dye exclusion method로 實施하였다.

Rosette 形成細胞檢査: 河等<sup>27,28)</sup>이 記述한 方法에 準하여 脾臟細胞의 rosette 形成細胞檢査를 하였다. 簡記하면, 3回 遠心洗滌하여 浮遊한 脾臟細胞浮遊液 0.5 ml( $6 \times 10^6$  細胞)와 同量의 SRBC 浮遊液( $1.8 \times 10^8$ )細胞를 混合하여 200 g(800 rpm)로 10分間 遠心한 後 4°C에 30分間 放置하였다. 여기에 0.3% methylene blue 液 1滴을 添加하고 조심스럽게 흔들어서 再浮遊시켰다. 이 浮遊液 1滴을 血球計算板에 떨어뜨리고 rosette 形成細胞를 檢査하였다. 檢査時 1個脾臟細胞에 SRBC가 3個以上 附着되었을때 rosette 形成細胞로 判定하였으며, rosette 形成率은 다음式에 準하여 計算하였다.

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

赤血球凝集價測定: SRBC에 對한 凝集抗體價는 Ha 등<sup>29)</sup>이 記述한 方法으로 實施하였다. 簡記하면, 各 마우스로부터 血清을 分離하여 56°C에 30分間 非働化한 다음 microtitration tray (Limbro Chemical Co., Inc., New Haven, Connecticut)의 各 well에 veronal buffer(pH 7.2)로 2倍系列稀釋한 血清 0.025 ml와 同量의 HBSS에 浮遊한 0.5% SRBC 浮遊液을 잘 混合하여 39°C에서 18~24時間 放置한 後 赤血球凝集類型을 觀察하여 判讀하였으며 凝集을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 血清의 抗體價로 判讀하였다.

溶血素價測定: 溶血素價는 河等<sup>29)</sup>이 記述한 方法에 準하여 測定하였다. 簡記하면, SRBC 量과 血清稀釋은 凝集素測定時와 同一하게 實施하였으며 SRBC와 各稀釋血清이 들어 있는 各 well에 正常家兔血清(補體)을 5倍로 稀釋하여 0.025 ml씩 加한 다음 39°C에서 1時間 放置하여 溶血與否를 觀察하였다. 이때 完全 溶血

을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 力價로 判讀하였다.

**2-Mercaptoethanol(2-ME)處理:** 河等<sup>29)</sup>이 記述한 方法에 準하여 實施하였다. 各 血清의 2-ME 耐性凝集 抗體 및 溶血素力價를 判定하기 爲하여 0.2N 2-ME (Eastman Kodak Co., Rochester, N.Y.)로 血清을 處理하여 2-ME 耐性抗體를 IgG 抗體로, 2-ME로 處理하기 以前의 抗體를 總抗體 또는 IgM 抗體로 判讀 하였다. 各 稀釋血清 0.02 ml과 同量의 2-ME를 混合 하여 蒸發하지 않도록 tray를 密封하여 37°C에 30分間 放置한 後 SRBC를 加하여 凝集素와 溶血素의 力價를 測定하였다.

### 成 績

***C. parvum*이 Arthus 反應에 미치는 影響:** 第1圖에서 보는 바와 같이 SRBC로 免疫하기 8日前에 *C. parvum*을 皮下注射하였을 때의 Arthus 反應은 對照와 大同小異하였으나, SRBC로 免疫하기 4日 및 2日前에 *C. parvum*을 投與하였을 때는 對照에 比하여 多少 低下되었고 免疫과 同時 또는 免疫後 2일에 *C. parvum*을 皮下注射했을 때는 그 反應이 顯著히 減少하였다.

***C. parvum*이 DTH 反應에 미치는 影響:** 第2圖에서 보는 바와 같이 *C. parvum* 投與時期에 따라 相異한 DTH 反應을 나타냈다. SRBC로 免疫하기 前 8日 및 2日 그리고 同時에 *C. parvum*을 皮下注射했을 時 SRBC에 對한 DTH 反應은 對照의 反應과 그 크기에 있어 類似하였으나 免疫하기 4日前 *C. parvum*을 皮下 投與했을 때는 그 反應이 오히려 約 2倍 增加하였으며

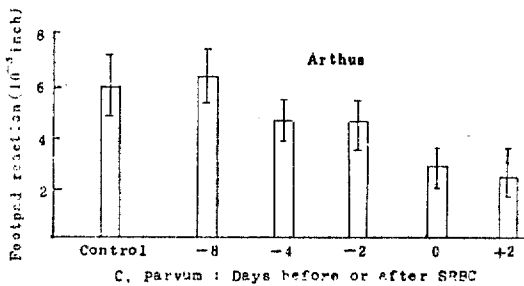


Fig. 1. Effect of *C. parvum* on Arthus reaction when given at various time relative to SRBC sensitization. *C. parvum* (700  $\mu$ g) was subcutaneously injected into each mouse before (-) or after (+) intravenous sensitization  $10^8$  SRBC. A challenge injection was given 4 days after sensitization. Control mice received SRBC but not *C. parvum*. Vertical bars represent  $\pm$  standard error of 5 mice.

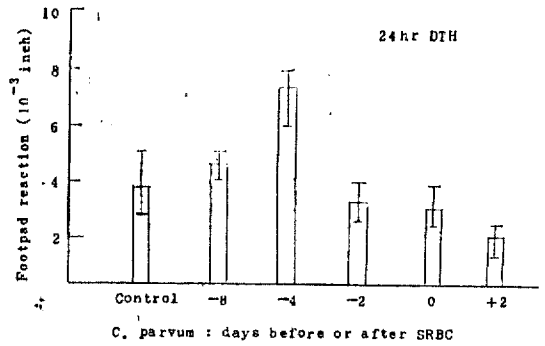


Fig. 2. Effect of *C. parvum* on DTH(24 hr) to  $10^8$  SRBC when given at various time relative to SRBC immunization. *C. parvum* (700  $\mu$ g) was subcutaneously injected into each mouse either before (-) or after (+) intravenous immunization with  $10^8$  SRBC. A challenge injection was given 4 days after immunization. Control mice received immunization but not bacteria. Vertical bars represent  $\pm$  standard error of 5 mice.

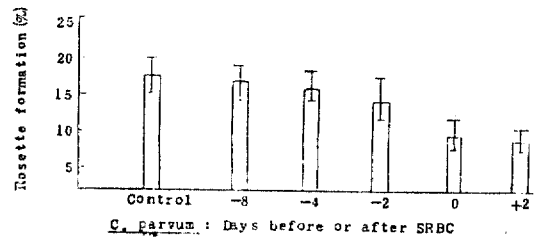


Fig. 3. Effect of *C. parvum* on rosette formation of mouse spleen cell when given at various time relative to SRBC injection. *C. parvum* (700  $\mu$ g) was subcutaneously injected into each mouse before (-) or after (+) intravenous injection of  $10^8$  SRBC into mouse footpad 4 days after primary injection. The mice were sacrificed 8 days after booster injection. Control mice received SRBC but not *C. parvum*. Vertical bars represent  $\pm$  standard error of 5 mice.

反對로 免疫後 2일에 *C. parvum*을 皮下注射했을 때는 DTH 反應이 約半으로 低下되었다.

***C. parvum* 皮下投與가 脾臟細胞 rosette 形成에 미치는 影響:** 마우스를  $10^8$  SRBC로 靜脈注射하기 前 8.4 및 2日 免疫과 同時 그리고 免疫後 2일에 *C. parvum* 700  $\mu$ g를 마우스皮下에 注射하고 免疫後 4일에  $10^8$  SRBC를 마우스足趾皮下에 追加 免疫하였으며, 追加 免疫後 8일에 마우스를 犧牲시켜 脾臟을 摘出하여 rosette 形成率을 檢査하였다. 對照動物에는 SRBC로 免疫하였으나 細菌은 投與하지 않았다. 이렇게 하여

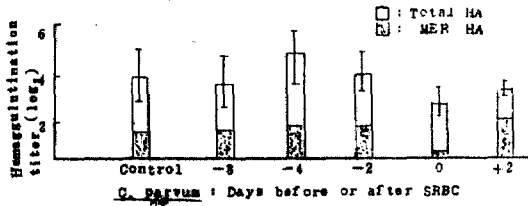


Fig. 4. Effect of *C. parvum* on hemagglutination(HA) titers to SRBC when given at various times relative to SRBC sensitization. *C. parvum* was subcutaneously injected before (-) or after (+) intravenous sensitization. Mice were boosted by subcutaneous injection into footpad 4 days after primary sensitization and were sacrificed 8 days after booster injection. Total hemagglutinin (□) and 2-mercaptoethanol resistant(MER) antibody (▨) were determined. Vertical bars represent  $\pm$  standard error of 5 mice.

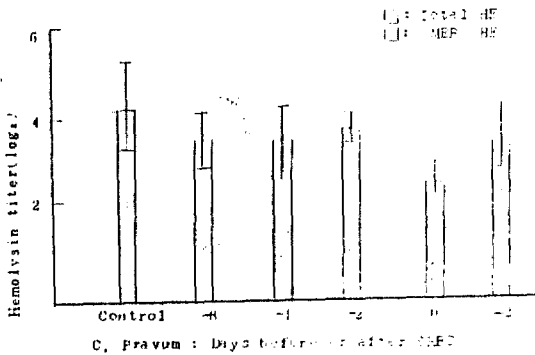


Fig. 5. Effect of *C. parvum* on hemolysin(HE) titers to SRBC when given at various times relative to SRBC sensitization. *C. parvum* was subcutaneously injected before (-) or after (+) intravenous sensitization of  $10^8$  SRBC. Mice were boosted by subcutaneous injection into footpad 4 days after booster. Total hemolysin (□) and 2-mercaptoethanol resistant(MER) HE (▨) were determined. Vertical bars represent  $\pm$  standard error of 5 mice.

얻은脾臟細胞의 rosette 形成率은 第3圖에서 보는 바와 같이 SRBC로 免疫하기 前 8,4 또는 2일에 *C. parvum*을 皮下注射했을 때는 對照群의 그것(18%)과大同小異하게 17.5%이었으나 免疫과 同時 및 免疫後 2일에 *C. parvum*을 注射했을 때는 rosette 形成率이 各各 10% 및 9.8%로 對照群(10%)에 비해 有意하게 ( $p < 0.01$ ) 低下되었다.

*C. parvum*이 血球凝集抗體에 미치는 影響: *C. par-*

*vum*이 體液性免疫反應에 어떻게 影響을 미치는가를 알 아보기 爲하여 마우스를 SRBC로 靜脈注射하기 前 8,4 또는 2日, 免疫과 同時 그리고 免疫後 2일에 *C. parvum*을 皮下注射하고 感作後 4일에  $10^8$  SRBC를 마우스 足趾에 皮下注射하여 追加免疫하였다. 그後 8일에 마우스로부터 採血하여 血清을 分離하여 總抗體價와 IgG(MER) 抗體를 赤血球凝集反應으로 測定하였던 바 第4圖에서 보는 바와 같이 免疫하기 前 4일에 *C. parvum*을 投與하였을 때 總凝集價가 若干 增加한 것 을 除하고는 免疫하기 前 8日, 2日 및 免疫後 2일에 *C. parvum*을 投與한 때는 그 總凝集力價들은 對照群의 力價와 비슷하였다. 反對로 MER 抗體反應은 免疫하기 前 8,4 및 2일에 *C. parvum*을 投與하였을 때는 모두 같은 程度의 反應이었으나 免疫後 2일에 *C. parvum*을 投與하였을 때의 IgG 抗體反應은 對照群 및 其他群의 IgG 抗體反應에 比하여 가장 높았으며, 免疫과 同時에 *C. parvum*을 投與하였을 때는 가장 낮은 IgG 抗體反應을 보였다.

*C. parvum* 投與가 溶血素形成에 미치는 影響: 上記한 凝集反應檢査때와 同一한 免疫過程, 同一한 *C. parvum* 投與 및 血清分離過程에 準하여 溶血素價를 測定하였던 바 第5圖에서 보는 바와 같이 免疫後 2일에 *C. parvum*을 投與했을 때 IgG 對照群과 비슷한 反應을 除外하고 其他群의 總抗體力價 및 IgG 抗體價가 共히 多少 低下되었다. 免疫後 2일에 *C. parvum*을 投與했을 때 IgG 抗體價가 其他群에 비해 凝集抗體反應에 있어서 처럼 大體적으로 約 2倍 높았는데 이는 興味있었다.

## 考 按

*C. parvum* 處理는 unrelated antigen에 對한 細胞 仲介性免疫反應(cell-mediated immunity)을 抑制한다고 한다. Asherson 等<sup>20)</sup>은 picryl chloride 또는 oxazolone에 對한 CS가 抑制되었다고 報告하였다. Scott<sup>21)</sup>은 마우스에  $10^8$  SRBC를 皮下注射하여 感作하기 前 7,4 및 2일에 *C. parvum*을 靜脈注射하였더니 SRBC에 對한 DTH가 抑制되었으며, *C. parvum*을 抗原과 同時 또는 免疫後 2일에 마우스에 靜脈注射하였을 때는 DTH가 抑制되지 않았고 脾臟을 摘出하여도 DTH反應은 影響을 받지 않으나 *C. parvum*을 投與하기 3日前에 脾臟을 摘出하면 *C. parvum*에 依한 DTH 抑制作用이 完全 消失되었다고 報告하고, *C. parvum* 投與에 依한 DTH의 peripheral expression이 減少된 것은 *C. parvum* 劑載脾臟에 trapping 되어 있는 感作細

胞의 effective depletion에 基因한 것이라고 解釋하였다. 吳等<sup>26)</sup>도 SRBC 免疫과 同時 또는 免疫前에 *C. parvum*을 靜脈注射했을 때 對照群에 比하여 有意한 DTH 減少를 보였으나 抗原感作後 2日에 *C. parvum*을 靜脈投與했을 때의 DTH는 對照群의 DTH에 比하여 差異가 없었으며, Arthus 反應은 免疫하기 8 및 2日前 그리고 同時에 投與했을 때는 減少되었으나 4日前에 *C. parvum*을 投與한 境遇에는 對照群의 그것보다 오히려 增加하였다고 報告하였다. 또한 그들은 SRBC로 免疫하기 2日前에 suppressor T cell을 選擇적으로 破壞<sup>32-37)</sup> 하는 cyclophosphamide를 投與하였더니 *C. parvum* 處理로 低下되었던 DTH가 正常으로回復되는 것으로 미루어 *C. parvum* 投與에 依한 DTH 抑制作用機轉의 可能性의 하나로 suppressor T cell의 役割을 指摘하였다. 著者の 本實驗結果 免疫하기 4日前에 *C. parvum*을 皮下注射했을 때 DTH 反應이 오히려 增加하고, SRBC 免疫後 2일에 注射했을 때는 反對로 DTH 反應이 減少한 成績(第 2圖), 그리고 Arthus 反應에 있어서도 SRBC 免疫以前에 *C. parvum*을 注射했을 때의 反應보다 免疫과 同時 및 免疫 2日後에 注射했을 때의 反應이 더 低下된 結果 등은 *C. parvum*을 靜脈注射하여 얻은 Scott<sup>25)</sup> 및 吳等<sup>26)</sup>의 成績과는 一致하지 않았다. 더우기 著者の 本成績은 *C. parvum*을 皮下注射했을 때 DTH 反應이 減少되지 않았다는 Scott<sup>25)</sup>의 報告와 一致하지 않았다. 그러나 *C. parvum*을 皮下注射하여 얻은 DTH 反應은 靜脈注射하여 얻은 吳等<sup>26)</sup>의 DTH 反應보다는 大體적으로 多少 높았다.

*C. parvum*을 注射할 때 注射經路가 매우 重要함을 上記한 成績으로 알 수 있는 바 Scott 등<sup>25)</sup>은 少量(35  $\mu$ g)의 *C. parvum*을 1週日 1回 14週間 마우스의 靜脈 또는 皮下注射하였더니 多量의 *C. parvum*을 靜脈注射했을 때는 DTH가 減少되었음에도 不拘하고 少量皮下注射했을 때의 DTH는 正常對照群의 反應과 비슷하였으며 少量靜脈注射에는 오히려 促進된 DTH 反應을 나타냈었다고 報告하여 *C. parvum*을 臨牀적으로 癌의 治療 目的으로 使用할 때는 *C. parvum*의 靜脈投與가 局所注射했을 때보다 더욱 治療效果가 큰 것이라고 考按하였다.

*C. parvum*에 依한 DTH 抑制作用機轉은 本實驗단으로는 알 수 없으나 다음 몇가지 可能性을 考慮할 수 있었다. 即, 1) *C. parvum*이 interferon 合成을 誘導<sup>38)</sup> 하여 生産된 interferon에 依한 DTH 反應抑制<sup>39)</sup> 2) *C. parvum*에 依해 活性化된 大食細胞에 依한 DTH 關與淋巴球增殖抑制<sup>40)</sup> 3) *C. parvum*에 依해 活性化된

大食細胞의 prostaglandin 分泌에 依한 DTH 抑制<sup>29, 36)</sup> 및 4) *C. parvum*에 依해 generation된 suppressor T cell에 依한 抑制 등<sup>26)</sup>의 要因에 依해 惹起된 現象이라고 推測할 수 있었다.

*C. parvum* 處理群과 正常對照群의 SRBC에 對한 凝集 및 溶血反應의 크기 差異는 *C. parvum* 投與에 依해 DTH 反應에서 볼 수 있었던 反應의 增減程度의 差異와는 달리 거의 差異를 볼 수 없었던 結果(第 4 및 5圖), 그리고 凝集抗體 및 溶血抗體中の IgG 抗體價가 SRBC 免疫後 *C. parvum*을 投與했을 때 免疫以前에 *C. parvum*을 投與했을 때보다 多少 높았던 成績(第 4 및 5圖)은 興味있었다.

人體末梢循環血液細胞中 SRBC와 自然 rosette를 形成하는 細胞는 T淋巴球임은 오늘날 잘 알려진 事實이며 사람의 末梢血液細胞中 T細胞의 同定에 rosette 形成手技가 많이 利用되고 있다<sup>37)</sup>. Biozzi 등<sup>7)</sup> 및 Wilson 등<sup>38)</sup>은 免疫動物에 있어서 免疫反應에 關與하는 3型의 細胞 即, T細胞, B細胞 및 大食細胞가 모두 rosette를 形成한다고 報告하였다. Bach 등<sup>39)</sup>은 正常 마우스脾臟細胞의 SRBC와의 rosette 形成細胞는 約 66%가 T細胞이고, 나머지 34%가 B細胞이었다고 報告하였다. 著者の 本實驗에서 測定한 rosette 形成細胞는 B細胞도 있겠으나 大部分이 T細胞라고 할 수 있는데, SRBC로 免疫하기 前 8, 4 또는 2일에 *C. parvum*을 皮下注射했을 때의 rosette 形成率은 對照群의 그것(18%)에 比해 有意한 差異가 없었으나 免疫과 同時 및 免疫後 2일에 *C. parvum*을 皮下注射했을 때는 rosette 形成率이 有意하게 減少된 本實驗結果(各各 10 및 9.8%, 第 3圖)는 興味있었다. 이와같이 *C. parvum* 投與가 rosette 形成에 미치는 影響을 動物을 對象으로 實驗한 研究報告는 찾아 볼 수 없었으므로 他實驗結果와는 比較할 수 없었다. *C. parvum* 投與마우스에 있어서 rosette 形成減少現象의 發生機轉은 本實驗단으로 研實히 알 수 없고, 또한 抗原投與以前에 *C. parvum*을 投與하면 rosette 形成率에 別變化를 일으키지 않으나 抗原과 同時 또는 2日後에 *C. parvum*을 投與할 때는 rosette 形成率이 減少되었는데 그 理由도 研實히 알 수 없었으나 다음과 같은 可能性을 생각할 수 있었다. 即, rosette 形成率의 減少는 *C. parvum* 死苦백신이 直接 淋巴球에 影響을 미쳐 나타나는 結果라고 하기 보다는 *C. parvum*이 interferon을 生産한다는 Kirchner 등<sup>40)</sup>의 報告와 interferon 生産細胞인 effector T cell이 rosette 形成細胞일 것이라는 Felsburg 등<sup>41)</sup>의 報告로 미루어 *C. parvum* 注射로 生産된 interferon이 rosette 形成細胞의 分化增殖을 抑制하여<sup>38, 42)</sup> 結果적으로

로 脾臟內의 effector T cell 數를 減少시켜 rosette 形成率이 減少되었을 可能性을 생각할 수 있었다. 또한 生産된 interferon이 rosette 形成細胞의 表面構造를 變化시켜<sup>40)</sup> 細胞의 SRBC에 對한 receptor가 破壞 또는 不活化됨으로써 rosette 形成率이 減少되었을 可能性도 생각할 수 있었다. Kirchner 等<sup>41)</sup>은 마우스에 *C. parvum*을 복강注射한 後 5~10日에 血清 interferon의 濃度가 有意하게 上昇하였다고 報告하였고, Gangemi 等<sup>42)</sup> 및 Milas 等<sup>43)</sup>은 *C. parvum*의 接種經路 및 注射時期에 따라 C3H/HeN 및 C3H/HeJ 마우스의 免疫反應이 相異함을 報告하고, *C. parvum* 投與는 interferon 合成을 誘導할 뿐만 아니라 大食細胞와 natural killer cell의 機能을 促進시켜 宿主의 antiviral activity를 增加시킨다고 報告하였다. Thatcher 等<sup>44)</sup>은 轉移性黑色 腫患者의 preimmunization rosette 形成率은 有意하게 低下되어 있었으나 이들 腫瘍患者에 *C. parvum*을 接種한 後에는 EA-rosette 및 "null" cell 數는 減少하였지만 E-rosette 形成率은 有意하게 增加되었다고 報告하였다.

河 等<sup>45)</sup>은 마우스脾臟 rosette 形成細胞의 性質을 究明하고, 脾臟細胞를 家兔抗胸腺血清으로 處理하면 rosette 形成率이 20% 減少되었고, rosette 形成細胞의 大部分은 glass wool adherent cell이었으며 cyclophosphamide 또는 prostaglandin F<sub>2</sub> alpha로 마우스를 處理할 境遇 rosette 形成細胞가 顯著히 減少하였다고 報告하였다.

## 結 論

緬羊赤血球(SRBC)로 마우스를 免疫하기 前 同時 또는 後의 *C. parvum*(700 μg) 皮下注射가 細胞性 및 體液性免疫反應에 미치는 影響을 Arthus 反應, 遲延性過敏反應(DTH), rosette 形成反應, 凝集 및 溶血反應을 測定하여 觀察하였다.

SRBC로 免疫하기 8日前에 *C. parvum*으로 前處理된 마우스의 Arthus 反應(3時間)은 對照群의 反應과 類似하였다. 그러나 *C. parvum*을 SRBC로 感作하기 前 4 또는 2日에 注射했을 때는 Arthus 反應은 多少 抑制되었으며 *C. parvum*을 抗原과 同時 또는 2日後에 注射했을 때는 Arthus 反應은 顯著하게 抑制되었다.

DTH 反應은 *C. parvum*을 SRBC 感作前 8 및 2日에 또는 抗原과 同時에 投與했을 때 有意한 減少를 나타내지 않았다. 反對로 SRBC 感作前 4日에 *C. parvum*을 投與했을 때는 DTH 反應은 有意하게 增加되었다. DTH 反應은 *C. parvum*을 SRBC 感作後 2日에 投與

했을 때는 減少되었다.

*C. parvum*을 SRBC 感作前 8, 4 및 2日에 投與했을 때의 脾臟細胞의 rosette 形成率에는 有意한 變化가 없었다. 그러나 *C. parvum*을 SRBC 感作과 同時 또는 2日後에 投與했을 때의 rosette 形成率은 有意하게 減少되었다.

凝集素 및 溶血素價는 *C. parvum* 投與時期에 關係없이 皮下注射하였을 때 影響을 받지 않았다. 그러나 mercaptoethanol 耐性(IgG) 凝集 및 溶血抗體價는 抗原注射後 2日에 *C. parvum*을 投與했을 때 多少 增加되었다.

以上과 같은 結果로부터 *C. parvum* 投與는 投與時機 및 投與經路에 따라 마우스의 免疫反應을 促進 또는 抑制할 수 있음을 結論지을 수 있었다. 이와 같은 結果는 *C. parvum* 接種時期 및 接種經路가 癌治療目的으로 *C. parvum*을 臨床적으로 投與할 때 重要한 點임을 示唆한다.

## 參 考 文 獻

- 1) Helpert, B.N., Prevot, A.R., Biozzi, C., Stiffel, C., Moutan, D., Morard, C., Bouthiller, Y. and Decreusefond, C.: *Stimulation of the phagocytic activity of the reticuloendothelial system provoked by Corynebacterium parvum*, *J. Reticuloendothel. Soc.* 1: 17, 1964.
- 2) Collins, F.M. and Scott, M.T.: *Effect of Corynebacterium parvum treatment on the growth of Salmonella enteritidis in mice*. *Infect. Immunity.* 9: 863, 1974.
- 3) Adlam, C., Broughton, E.S. and Scott, M.T.: *Enhanced resistance of mice to infection with bacteria following pre-treatment with Corynebacterium parvum*. *Nature N. Biol.* 235: 219, 1972.
- 4) Kirchner, H., Hirt, H.M. and Munk, K.: *Protection against herpes simplex virus infection in mice by Corynebacterium parvum*. *Infect. Immunity* 16: 9, 1977.
- 5) Budzke, D.B., Casals, J. and Waksman, B.H.: *Enhanced resistance against Junin virus infection induced by Corynebacterium parvum*. *Infect. Immunity.* 19: 895, 1978.
- 6) Nussenzweig, R.S.: *Increased non-specific resistance to malaria produced by administration*

- of killed *Corynebacterium parvum*. *Exp. Parasitol.* 21 : 224, 1967.
- 7) Biozzi, C., Stiffel, C., Mouton, D., Bouthillier, and Decreusefond.: *A kinetic study of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with sheep erythrocytes.* *Immunology.* 14 : 7, 1968.
  - 8) Howard, J.C., Christie, G.H. and Scott, M.T.: *Biological effects of Corynebacterium parvum. IV. Adjuvant and inhibitory activities on B lymphocytes.* *Cell Immunol.* 2 : 290, 1973.
  - 9) Halpern, B. (ed): *Corynebacterium parvum, applications in experimental and clinical oncology.* Plenum press, New York, 1975.
  - 10) Woodruff, M.F.A., McBride, W.H. and Dunbar, N.: *Tumor growth, phagocytic activity and antibody response in Corynebacterium parvum-treated mice.* *Exp. Immunol.* 17 : 509, 1974.
  - 11) Israel, L. and Halpern, B.N.: *Le Corynebacterium parvum dans les cancer avances.* *Nouv. Press Med.* 1 : 19, 1972.
  - 12) Israel, L., Edelstein, R., Depierre, A. and Dinotrov, N.: *Daily intravenous infusion of Corynebacterium in twenty patients with disseminated cancer: a preliminary report of clinical and biological findings.* *J. Natl. Cancer Inst.* 55 : 29, 1975.
  - 13) Gangemi, J.D., Hightower, J.A., Jackson, R. A., Maher, M.H., Welsh, M.G. and Sigel, M. M.: *Enhancement of natural resistance to influenza virus in lipopolysaccharide-responsive and -nonresponsive mice by Propionibacterium acnes.* *Infect. Immunity* 39 : 726, 1983.
  - 14) Bartlett, G.L. and Kreider, J.W.: *Specific unresponsiveness to Corynebacterium parvum as measured by delayed hypersensitivity,* *Immunol. Commun.* 10 : 719, 1981.
  - 15) Scott, M.T.: *Corynebacterium parvum as an immunotherapeutic agent.* *Semin. Oncol.* 1 : 367, 1974.
  - 16) Olivotto, M., and Bomford, R.: *In vitro inhibition of tumor cell growth and DNA synthesis by peritoneal and lung macrophages from mice injected with Corynebacterium parvum.* *Int. J. Cancer,* 13 : 478, 1974.
  - 17) Christie, C.H. and Bomford, R.: *Mechanisms of macrophages activation by Corynebacterium parvum I. In vitro experiments.* *Cell Immunol.* 17 : 141, 1975.
  - 18) Bomford, R., and Christie, C.H.: *Mechanisms of macrophages activation by Corynebacterium parvum II. In vitro experiments.* *Cell Immunol.* 17 : 1504, 1975.
  - 19) Oettgen, H.F., Pinsky, C.M. and Delmonte, L.: *Treatment of cancer with immunomodulators Corynebacterium parvum and levamisole.* *Med. North Am.* 60 : 511, 1976.
  - 20) Royle, G. and Gill, P.G.: *Metabolic changes following the intravenous infusion of Corynebacterium parvum in man.* *Cancer* 43 : 1328, 1979.
  - 21) Eppinger-Helft, M., Pavlovsky, S., Hidalgo, G., Muviel, F.S., Suarez, A., Garay, G., Russo, C., Santos, M., Macchi, A. and Lein, J.: *Chemoinmunotherapy with Corynebacterium parvum in acute myelocytic leukemia.* *Cancer* 45 : 280, 1980.
  - 22) Scott, M.T.: *Biological effects of the adjuvant Corynebacterium parvum II. Evidence for macrophage-T cell inactivation.* *Cell Immunol.* 5 : 467, 1972.
  - 23) Kirchner, H., Halden, H.T. and Herberman, R.B.: *Splenic suppressor macrophage induced in mice by injection of Corynebacterium parvum.* *J. Immunol.* 115 : 1212, 1975.
  - 24) Scott, M.T.: *Biological effects of the adjuvant Corynebacterium parvum I. Inhibition of PHA, mixed lymphocytes and GVII reactivity.* *Cell Immunol.* 5 : 459, 1972.
  - 25) Scott, M.T.: *Depression of delayed-hypersensitivity by Corynebacterium parvum: mandatory role of the spleen.* *Cell Immunol.* 13 : 251, 1974.
  - 26) 吳鍾鉉, 李憲九, 河大有: *Corynebacterium parvum이 緬羊 赤血球에 對한 免疫反應에 미치는 影響,* *大韓微生物學會誌* 15 : 63, 1980.
  - 27) 河大有: *紅疫 Virus 感染이 Mouse의 免疫反應에 미치는 影響,* *中央醫學* 32 : 319, 1977.
  - 28) 河大有, 李正鎬: *人蔘에 關한 細菌學 및 免疫學的*

- 研究 第Ⅱ報, 人蔘이 mouse의 免疫反應에 미치는 影響, 大韓免疫學會誌 1 : 45, 1979.
- 29) Ha, T.Y. and Waksman, B.H.: *Role of the thymus in tolerance X. "Suppressor" activity of antigen-stimulated rat thymocytes transferred normal recipients.* *J. Immunol.* 115 : 606, 1973.
- 30) Asherson, G.L. and Allwood, G.G.: *Depression of delayed hypersensitivity by pretreatment with Freund type adjuvants I. Description of phenomenon.* *Clin. Exp. Immunol.* 2 : 249, 1971.
- 31) Zembara, M. and Asherson, G.L.: *The effect of cyclophosphamide and irradiation cells which suppress contact sensitivity in the mouse.* *Clin. Exp. Immunol.* 23 : 554, 1976.
- 32) 鄭憲鐸, 河大有, 鄭東奎: Cyclophosphamide에 의한 mouse의 肝臟과 淋巴節의 組織學的 變化: 大韓微生物學會誌 13 : 55, 1978.
- 33) Askenase, P.W., Hayden, B.J. and Gershon, R.K.: *Augmentation of delayed hypersensitivity by dose of cyclophosphamide which do not affect antibody response.* *J. Exp. Med.* 141 : 697, 1975.
- 34) 鄭憲鐸, 河大有: 免疫血清이 Cyclophosphamide로前處理된 마우스의 免疫反應에 미치는 影響, 全北醫大論文集 3 : 11, 1979.
- 35) Scott, M.T., and Warner, S.L.: *The accumulated effects of repeated systemic or local injections of low dose of Corynebacterium parvum in mice.* *Cancer Research* 36 : 1335, 1976.
- 36) Goodwin, J.S., Banwin, J.S., Bankhurst, A.D. and Messner, R.P.: *Suppression of human T-cell mitogenesis by prostaglandin. Existence of a prostaglandin producing suppressor cell.* *J. Exp. Med.* 146 : 1719, 1977.
- 37) 河大有, 鄭憲鐸: 여러가지 要因이 淋巴球의 Rosette 形成에 미치는 影響. 全北醫大論文集 1 : 1, 1979.
- 38) Wilson, T.D., Miller, J.F.A. P.: *T and B rosette forming cells.* *Eur. J. Immunol.* 1 : 501, 1971.
- 39) Bach, J.F. and Dardenne, M.: *Antigen recognition by T lymphocytes. I. Thymus and marrow dependence of spontaneous rosette forming cells in the mouse.* *Cell Immunol.* 3 : 1, 1972.
- 40) Kirchner, H., Scotte, M.T., Hirt, H.M. and Munk, K.: *Protection of mice against viral infection by Corynebacterium parvum and Bordetella pertussis.* *J. Gen. Virol.* 41 : 97, 1978.
- 41) Felsburg, P.J. and Edelman, R.: *The active E-rosette test: A sensitive in vitro correlate for human delayedtype hypersensitivity.* *J. Immunol.* 118 : 62, 1977.
- 42) Schultz, R.M., Papamatheakis, J.D. and Chirigos, M.A.: *Interferon: An inducer of macrophage activation by polyanions.* *Science* 197 : 674, 1977.
- 43) Woodruff, J.F. and Woodruff, J.J.: *Virus-induced alterations of lymphoid tissue. I. Modification of the recirculating pool of small lymphocytes by new castle disease virus.* *Cell Immunol.* 1 : 333, 1967.
- 44) Milas, L., and Scott, M.T.: *Antitumor activity of Corynebacterium parvum.* *Advances in cancer research*(ed. by Klein, G. and Weinhouse, S.) 36 : 257, Academic Press, New York, 1978.
- 45) Thatcher, N., Swindell, R. and Crowther, D.: *Effects of repeated Corynebacterium parvum and BCG therapy on immune parameters: a weekly study of melanoma patients. II. Changes in serum immunoglobulins and lymphoid cell subpopulations.* *Clin. Exp. Immunol.* 36 : 456, 1979.
- 46) 河大有, 鄭憲鐸: 마우스 脾臟에 있어서 rosette 形成細胞의 細胞學的 特徵: 全北醫大論文集 4 : 1, 1980.