

식이 아연이 Mouse의 면역 반응에 미치는 영향에 관한 연구

명 춘 옥·이 기 열

연세대학교 가정대학 식생활학과

임 경 일

연세대학교 의과대학 기생충학교실

Effects of Zinc Deficiency on Immune Response in Mouse

Choon-OK Myung, Ki-Yul Lee

Dept. of Food and Nutrition, College of Home Economics, Yonsei University

Kyung-IL Im

Dept. of Parasitology, College of Medicine, Yonsei University

=ABSTRACT=

The purpose of this study was to investigate the effects of dietary zinc on immune response in mice. Weanling male mice was placed individually in stainless steel cages and fed a zinc deficient diet and control diet. All mice were given deionized water ad libitum. The introduction of extraneous zinc was minimized in all cages by washing feed jars and water bottles sequentially with 4mM EDTA and conc-nitric acid followed by deionized water. After 4 and 5 weeks of the diets, mice were immunized with 1×10^6 *Naegleria fowleri* intraperitoneally. Mice were weighed once a week.

The results from this study are summarized as followed :

- 1) Mice fed the zinc deficient diet showed growth retardation. After 3 weeks of diets, mean body weight of zinc deficient mice was 21.4g and that of control was 25.0g. This difference is significant statistically ($p<0.01$). The more time passed, the more remarkable difference was found.
- 2) The weight of organs were measured on liver, kidney, spleen, thymus, heart, lung, brain. Difference in weight were observed only in liver and spleen.
- 3) Proliferative response of spleen cells of zinc deficient mice to con A was lower than that of control mice after one week on immunization ($p<0.005$).
- 4) Stimulation index was lower in zinc deficient mice to phytohemagglutinin after two weeks

on immunization ($p<0.05$).

5) Blastogenesis of spleen cells of zinc deficient mice to *Naegleria fowleri* lysate was lower after 10 days on immunization ($p<0.05$).

6) Immunoglobulin G antibody titers of zinc deficient mice sera by ELISA was lowered to control mice after 5 weeks on immunization ($p<0.005$).

서 론

아연에 관한 연구는 미량 원소의 분석 기술이 발달한 금세기에 이르러 연구가 활발하며, 최근에 이르러 아연이 면역 능력에 중요한 역할을 함이 여러 연구자들에 의해 밝혀지고 있다¹²⁾. 아연은 체내의 여러 생화학적 반응에 관여하는 금속효소(metalloenzyme)의 구성 성분이 되고^{3,4,5)} 특히 흥선의 DNA polymerase와 관련되어 있다. 그러므로 아연 결핍 시에 흥선이 위축되고, helper T-cell의 기능이 저하된다⁶⁾. 또한 체중이 감소되고, 양적혈구(sheep red blood cell)에 대한 plaque-forming cell의 기능과 암세포에 대한 killer T-cell의 기능도 저하되었으며, 자연살세포(natural killer cell)의 활성도 감소된다.

본 연구에서 면역매체로 이용한 자유생활아메바(*Naegleria fowleri*)는 자연계에 널리 분포되어 있으며^{7,8)}, 우리나라에서도 이 아메바가 하천과 수영장에서 발견된 바 있다^{9,10)}.

본 연구는 아연 결핍이 면역 능력에 미치는 영향을 알아보고자 한다. 즉 첫째로 세포성 면역(cell mediated immunity) 중 비특이성 배자발생(nonspecific blastogenesis)을 알아보기 위해서는 mouse 비장 림프구(lymphocyte)에 T-cell mitogen을 처리하여 배자발생이 이루어지는 정도를 비교하며, 둘째로 특이성 배자발생(specific blastogenesis)을 알아보기 위해서는 면역시킨 *Naegleria fowleri*와 같은 주(strain)의 용출액(lysate)을 만들어서 mouse 비장 림프구가 배자 발생되는 정도를 비교한다. 셋째로 체액성 면역(humoral immunity)을 알아보기 위하여 최근 실시되고 있는 면역진단 검사법 중에서 감수성, 특이성과 재현성이 뛰어난 효소표식면역 검사법(enzyme linked immunosorbent assay: ELISA)을 이용하여 혈청내 항체를 측정하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험 동물 및 식이

10~20g내외의 ICR mouse 수컷을 시판 사료로 3일간 적응시킨 후 72마리씩 아연 결핍군과 대조군으로 나눈 뒤 각각의 체중을 측정하였다. Mouse 사육장(cage)은 중금속의 오염을 막기 위해서 10mM EDTA(ethylene diamine tetracetic acid)로 철저히 세척하고 탈이온수로 헹군 다음 건조시켜 사용하였다. 실험에 사용한 모든 기구는 강산에 처리한 뒤 탈이온수로 2~3회 세척하여 사용하였다. 탈이온수 내에 아연의 함량은 atomic absorption spectrophotometer(shimadzu, 550)를 사용하여 측정한 결과 이제기에 의해 측정될 수 있는 최소의 양보다 적은 것으로 나타났다. 실험 식이의 성분은 Table 1과 같다.

아연의 경우 아연 결핍군에서는 아연 혼합물을 첨가하지 않았고, 대조군에서는 30ppm이 함유되도록 하였다¹¹⁾. 당질 급원으로는 dextrose를 사용하였고, 단백질 급원으로는 난백 가루를, 지방의 급원으로는 옥수수 기름을 사용하였다. 무기질과 비타민 혼합은 Rogers와 Harper의 식이를¹²⁾ 기본으로 하였다. Mouse의 수분 섭취는 제한하지 않았으며, 탈이온수를 공급하였다.

2. 실험방법

실험 동물의 체중은 1주일 간격으로 측정하였다. 장기 무게는 첫번째 면역(immunization)을 실시한지 1주일 후인 제 5주째부터 측정하였고, 측정한 장기는 간장, 신장, 비장, 흥선, 심장, 폐장, 뇌동이었다. 본 실험에 면역 도구로 사용한 자유생활아메바는 수년간 무균적으로 배양해온 것을 사용하였

— 식이아연이 Mouse의 면역반응에 미치는 영향에 관한 연구 —

Table 1. Composition of experimental diets (wt, %)

Composition	Experimental animal group	
	Zinc deficient	Control
Dextrose	590	560
Egg white powder	180	180
Corn oil	150	150
Zn free salt mix*	40	40
Vitamin mix**	10	10
Cellulflour	20	20
Biotin mix ***	10	10
Zinc mix ****	0	30

* Zinc free mineral mixture(g per 100 g mineral mixture): calcium carbonate, precipitated, 29.29; calcium phosphate, dibasic, 0.43; potassium phosphate, monobasic, 34.31; sodium chloride, 25.06; magnesium sulfate, 7H₂O, 9.98; ferric citrate, 6H₂O, 0.623; cupric sulfate, 5H₂O, 0.516; manganese sulfate, H₂O, 0.121; potassium iodide, 0.0005; ammonium molybdate, 0.0025; sodium selenite, 5H₂O, 0.01

** Vitamin mixture (mg per kg diet): thiamin chloride, 5; riboflavin, 5; niacinamide, 25; calcium pantothenate, 20; pyridoxine chloride, 5; folic acid, 0.5; biotin, 0.2; cyanocobalamin, 0.03; ascorbic acid, 50; menadion, 0.05; inositol, 100; cholecalciferol, 400 I.U.; DL - alpha - tocopherol, acetate, 100 IU.

*** Biotin mixture: 200mg biotin in 1000g of dextrose

**** Zinc mixture: zinc acetate, 3.35g plus dextrose, 996.65g

으며, 면역은 실험식으로 사육한지 4주째와 5주째, 2회에 걸쳐 실시하였다. 즉 *Naegleria fowleri*가 1×10⁶/ml가 되도록 생리식염수에 부유시켜, mouse 복강에 1ml 씩, 1주일 간격으로 주입하였으며, 이 방법은 안¹³에 의해 이미 면역성이 인정된바 있다. *Naegleria fowleri* 용출액의 제조는 아메바가 들어있는 배지를 원심 분리하여 상층액은 버리고 RPMI 1640 배지로 2~3회 세척하였다. *Sonicator*로 세포막을 파괴시킨 뒤 4°C에서 20,000g로 1시간 원심분리하여 상층액을 0.2 μm의 pore size를 갖는 filter를 통과시켜 얻었다¹⁴. 이때 단백질 농도는 lowry법으로¹⁵ 측정하였다.

세포성 면역을 측정하기 위해서는 mouse를 희생

시켜 무균적으로 분리한 비장을 15% fetal calf serum이 포함된 RPMI 1640 용액에 넣어 세포부유액을 만든 다음 적혈구를 용해시켰다. 이를 세포 농도가 10⁶/200μl가 되도록 희석한뒤 concanavalin A (con A) (1μg, 2μg, 3μg, 4μg, 5μg, 10μg, 20μg/ml) 와 phytohemagglutinin (PHA) (1μg, 4μg, 7μg, 10μg, 20μg/ml) 을 넣었으며, *Naegleria fowleri* 용출액(10μg, 50μg, 100μg, 200μg, 500μg, 1000μg/ml)을 넣었다. 이때 각 mitogen과 용출액의 적정 농도를 구한 다음에는 적정 농도의 양만 넣었다.

37°C 항온기에서 42시간 배양한 다음, 구멍(well) 당 1μCi의 3H-thymidine을 가하고 6시간 배양하였다. Titerteck 세포수학기에서 세포를 수확한 후 회수된 세포에 scintillation cocktail (PPO 5g, POPOP 0.1g, xylene 1000ml) 5ml를 넣어, Packard liquid scintillation counter로 2분씩 방사능을 측정하여 자극 지수(stimulation index)를 산출하였다.

$$\text{자극지수} = \frac{\text{실험물질(mitogen, 용출액) 처리시의 방사능(cpm)}}{\text{대조군의 방사능(cpm)}}$$

체액성 면역을 측정하기 위해서는 혈청내 항체를 효소표식면역 검사법으로 측정하였으며, Voller등의 방법을¹⁶ 수정하여 사용하였다. 즉 자유생활아메바 항원을 도포완충액(coating buffer PH 9.6)으로 단백질 함량이 5μg/ml이 되도록 희석하여 polystyrene microplate의 각 구멍에 100μl 씩 넣고 4°C에서 1주야 방치하였다. 이것을 인산완충액 (PBS tween, PH 7.4)으로 씻고 시험 혈청을 1:800으로 희석한 용액 200μl 씩을 넣어 37°C 항온기에서 2시간 방치하였다. 다시 인산완충액으로 씻은 다음 1:1000으로 희석한 peroxidase conjugated goat antimouse immunoglobulin G를 100μl 씩 가하고 37°C 항온기에서 3시간 배양하였다. 여기에 ortho-phenylene diamine과 과산화수소를 100μl 씩 넣고 37°C에서 30분간 방치한 다음 50μl의 황산을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 모든 과정이 원료된 microwell plate는 ELISA 광량계를 이용하여 492nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 자료의 통계처리

실험 분석 결과는 통계 처리하여, 실험군과 대조

— 명춘옥 · 이기열 · 임경일 —

군의 평균치와 표준편차를 계산하였다. 실험군과 대조군의 평균치간의 유의성 검정은 t-test로 실시하였다.

실험결과 및 고찰

1. 체중 및 장기 무게 변동

실험 기과 동안 mouse의 몸무게는 Table 2에 나타낸바와 같다. 즉 실험 시작시의 몸무개는 차이가 없었으나 실험식이를 섭취한 뒤 3주후부터 9주까지 아연 결핍군의 몸무개가 현저하게 작았다($p < 0.01$), 이는 다른 여러 연구자들의 보고와 일치한다^{17) 22)}. 실험식이로 사육한 mouse 체내의 장기중 간장, 신장, 비장, 흉선, 심장, 폐장, 뇌등의 무게를 보면 단위체 중당 장기 무개의 차이를 보인것은, 간장과 비장이며 다른 장기는 아연 결핍군과 대조군 사이에 차이를 보이지 않았다(Table 3, 4).

2. Mitogen과 *Naegleria fowleri* 용출액의 적정 농도 결정

대표적인 T-cell mitogen인 con A와 PHA를 mouse

Table 2. Changes of body weight of mice during experimental period (unit:g)

Period (weeks)	Experimental animal group	
	Zinc deficient	Control
Initial	11.12 ± 1.876 ¹⁾	11.57 ± 0.590
1	15.68 ± 3.112	16.20 ± 3.334
2	19.54 ± 3.364	20.38 ± 3.678
3	21.44 ± 4.558	25.02 ± 3.590*
4	22.97 ± 4.554	28.92 ± 2.084**
5	24.42 ± 3.723	29.92 ± 2.084**
6	24.46 ± 3.150	31.12 ± 1.879**
7	25.00 ± 3.164	31.89 ± 1.591**
8	25.75 ± 1.554	32.34 ± 2.490**
9	26.17 ± 3.116	34.95 ± 1.845**

1) : Mean ± S.D.

* : Significantly greater than the zinc deficient mice ($p < 0.01$)

** : Significantly greater than the zinc deficient mice ($p < 0.005$)

Table 3. Change of organ weight per kg body weight of mice during experimental period (unit : ing)

Experimental group	Period (weeks)	No.of mice	organ			
			Liver	Kidney	Spleen	Lung
Zinc deficient	5	6	76.40 ± 4.282 ¹⁾	17.37 ± 0.912	8.77 ± 3.096	10.90 ± 1.680
	6	6	64.64 ± 1.977	17.16 ± 1.749	6.92 ± 3.450	13.02 ± 3.131
	7	6	24.92 ± 1.481	17.06 ± 0.958	4.95 ± 1.929	10.56 ± 2.455
	8	6	67.44 ± 4.189	19.53 ± 0.782	14.43 ± 3.455	15.19 ± 1.797
	9	6	50.37 ± 23.256	16.29 ± 0.416	3.88 ± 0.671	9.67 ± 2.920
Control	5	6	65.65 ± 10.388	19.23 ± 0.706	12.34 ± 2.929	9.23 ± 0.829
	6	6	70.33 ± 3.976	18.77 ± 1.349	6.05 ± 2.022	13.58 ± 0.961
	7	6	59.37 ± 0.560*	16.89 ± 1.651	5.41 ± 0.687	10.66 ± 1.641
	8	6	82.00 ± 23.266	19.99 ± 0.675	16.50 ± 5.608	14.92 ± 1.667
	9	6	54.68 ± 6.064	17.41 ± 1.781	6.86 ± 0.355*	6.71 ± 1.222

1) Mean ± S.D.

* Significantly greater than the zinc deficient mice ($p < 0.005$)

— 식이아연이 Mouse의 면역반응에 미치는 영향에 관한 연구 —

Table 4. Change of organ weight of mice during experimental period

(unit:mg)

Experimental group	Period (weeks)	No. of mice	Organ		
			Thymus	Heart	Brain
Zinc deficient	5	6	46.7 ± 15.28 ¹⁾	180.0 ± 17.32	380.5 ± 8.76
	6	6	53.3 ± 5.77	210.0 ± 26.46	433.3 ± 23.10
	7	6	59.5 ± 0.71	186.7 ± 5.77	403.3 ± 20.82
	8	6	16.7 ± 12.10	256.7 ± 85.05	393.3 ± 5.78
	9	6	36.7 ± 15.3	160.0 ± 51.96	373.6 ± 31.94
Control	5	6	50.0 ± 0.71	210.0 ± 50.0	393.9 ± 27.82
	6	6	40.0 ± 10.00	216.7 ± 20.82	410.3 ± 10.50
	7	6	43.3 ± 15.28	215.0 ± 35.35	380.5 ± 0.71
	8	6	20.0 ± 17.32	233.3 ± 35.12	376.6 ± 5.77
	9	6	59.3 ± 13.44	210.5 ± 0.71	425.5 ± 6.36

1) Mean ± S.D.

비장 림프구에 처리하였을 때, 자극 지수가 가장 높게 나타나는 농도는 모두 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다(Fig. 1, 2). Bendich 등은²³⁾ gunia pig의 비장 림프구에 con A와 PHA를 처리하였을 때 적정 농도는 모두 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다고 보고하였고, Scott와 Farrell은²⁴⁾ mouse의 바장 림프구에 con A 처리시 적정 농도는, 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이라고 하였다.

본 연구가 Scott와 Farrell의 연구와 con A의 적정 농도가 다른 것은 아마도 mouse의 종류 때문인 것으로 사료 된다. 본 연구는 ICR mouse를 사용한

반면에 Scott와 Farrell은 BALB/C mouse를 사용하였다. *Naegleria fowleri* 용출액의 적정 농도는 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다(Fig. 3). Manson과 Peterson은²⁵⁾ *Trichomonas vaginalis*의 항원이 인체 말초 혈액 림프구에 대해 배자발생을 일으키는 적정 농도는 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이라고 하였고, Diamantstein 등은²⁶⁾ *Entamoeba histolytica* 추출액(extract)이 인체 말초 혈액 림프구를 배자발생시키는 적정 농도는 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이

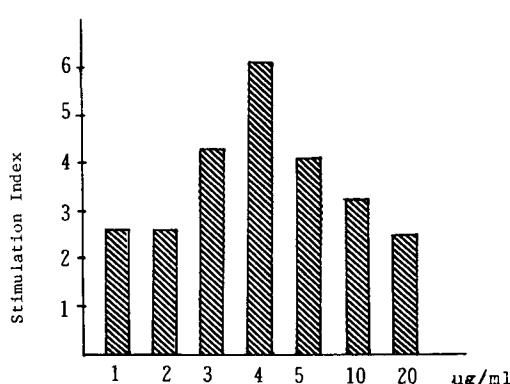


Fig. 1. Proliferative response of spleen cells from mice to various concentrations of concanavalin A

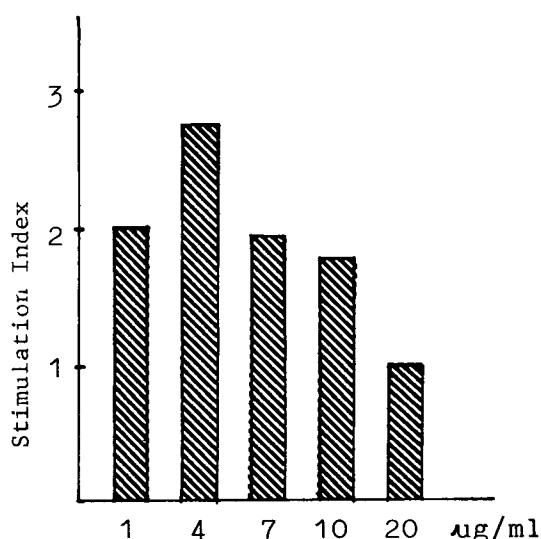


Fig. 2. Proliferative response of spleen Cells from mice to various concentrations of phytohemagglutinin.

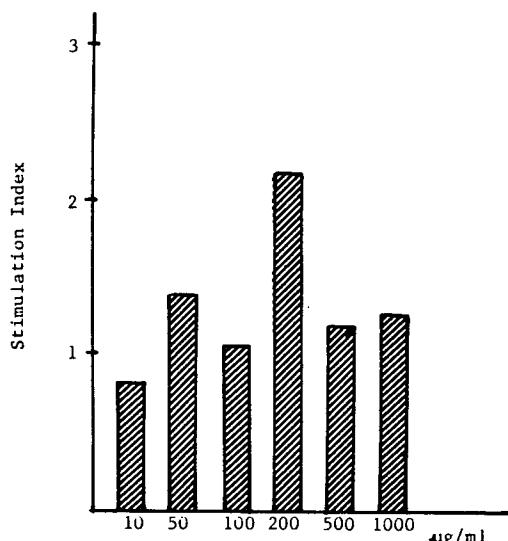


Fig. 3. Proliferative response of spleen cells from mice to various protein concentrations of *Naegleria fowleri* lysate.

라고 하였다. Mouse T-cell에 *Naegleria fowleri* 추출액의 처리시에 적정 농도는 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이라고 보고된 바도 있다²⁷⁾. 이상과 같이 mouse 비장 림프구에 mitogen과 용출액을 처리하였을 때, 배자 발생이 높게 이루어졌을 때의 농도를 적정 농도로 구하여 다음의 실험에서는 이 농도를 사용하였다.

3. Con A에 의한 비장 림프구의 배자발생 변동

실험 식이를 먹인 mouse의 비장 림프구에 con A를 처리해 보면, mouse에 2번째 면역을 시킨 다음, 즉시 희생시켜 측정했을 때 아연 결핍군은 자극지수가 0.96이고, 대조군은 2.75로 통계적으로 유의적인 차이가 있었다($p < 0.005$) (Table 5). 이와 같은 결과는 아연이 적게 함유된 식이 (1.6 $\mu\text{g}/\text{g}$)를 먹인 어미로부터 수유를 받은 새끼 mouse의 경우 비장 림프구에 con A, LPS(lipopolysaccharide), PWM(pokeweed-mitogen)을 처리하였을 때 대조군(30 $\mu\text{g}/\text{g}$)보다 배자발생이 잘 안 일어난다는 보고와 일치한다. Gross 등은²⁸⁾ 아연결핍 mouse에서 비장 림프구에 con A 처리시에 대조군보다 배자발생이 낮아진다고 보고한 바 있다.

Table 5. Stimulation index^a of spleen cells to concanavalin A in mice immunized with *Naegleria fowleri*

Period (weeks)	No. of mice	Experimental animal group	
		Zinc deficient	Control
5	6	0.96 \pm 0.181 ^b	2.75 \pm 0.136*
5.5	6	1.21 \pm 0.172	1.06 \pm 0.350
6	6	4.98 \pm 6.818	6.89 \pm 5.671
7	6	2.33 \pm 0.689	5.09 \pm 3.298
8	6	1.57 \pm 0.232	7.44 \pm 7.513
9	6	10.53 \pm 9.435	14.48 \pm 10.870

@: Stimulation index =

$$\frac{\text{cpm of treated sample(mitogen or lysate)}}{\text{cpm of untreated sample}}$$

1): Mean \pm S.D.

*: Significantly greater than the zinc deficient mice ($p < 0.005$)

Table 6. Stimulation index of spleen cells to phytohemagglutinin in mice immunized with *Naegleria fowleri*

Period (weeks)	No. of mice	Experimental animal group	
		Zinc deficient	Control
5	6	0.76 \pm 0.075 ^b	0.95 \pm 0.015
5.5	6	1.17 \pm 0.086	1.14 \pm 0.276
6	6	0.60 \pm 0.192	1.11 \pm 0.175*
7	6	1.20 \pm 0.317	1.53 \pm 0.369
8	6	1.30 \pm 0.038	1.27 \pm 0.406
9	6	1.01 \pm 0.194	1.31 \pm 0.177

1): Mean \pm S.D.

*: Significantly greater than the zinc deficient mice ($p < 0.05$)

4. PHA에 의한 비장 림프구의 배자발생 변동

PHA를 mouse 비장 림프구에 처리했을 때, 실험 식이를 준지 6주째에 아연 결핍 mouse의 자극 지수는 0.60으로 대조군의 1.11보다 유의하게 낮았다 ($p < 0.05$) (Table 6). 이것은 흰쥐에서 비장 림프구,

— 식이아연이 Mouse의 면역반응에 미치는 영향에 관한 연구 —

Table 7. Stimulation index of spleen cells to *Naegleria fowleri* lysate in mice immunized with *Naegleria fowleri*

Period (weeks)	No. of mice	Experimental animal group	
		Zinc deficient	Control
5	6	3.20 ± 0.938 ¹⁾	2.98 ± 3.072
5.5	6	0.89 ± 0.001	3.31 ± 0.262 *
6	6	3.23 ± 3.819	4.16 ± 1.478
7	6	1.98 ± 0.337	2.42 ± 0.821
8	6	2.27 ± 0.365	2.42 ± 0.444
9	6	4.26 ± 1.161	5.05 ± 1.660

1) Mean ± S.D.

*: Significantly greater than the zinc deficient mice($p < 0.05$)

Table 8. Changes of immunoglobulin G antibody titers of mice sera by ELISA(enzyme linked immunosorbent assay) after immunization (unit:O.D.)

Period (weeks)	No. of mice	Experimental animal group	
		Zinc deficient	Control
5	6	0.16 ± 0.030 ¹⁾	0.17 ± 0.082
6	6	0.49 ± 0.062	0.41 ± 0.048
7	6	0.64 ± 0.092	0.64 ± 0.059
8	6	0.47 ± 0.275	0.28 ± 0.112
9	6	0.30 ± 0.217	0.69 ± 0.052*

1): Mean ± S.D.

*: Significantly greater than the zinc deficient mice ($p < 0.005$)

홍선 림프구, 말초혈액 림프구 모두 PHA 처리시에, 아연 결핍군은 대조군 보다 통계적으로 유의하게 자극지수가 낮았다는 보고와 일치한다²⁹⁾

5. *Naegleria fowleri* 용출액에 의한 비장 림프구의 배자 발생 변동

본 연구에서는 T-cell mitogen의 처리로 비특이성 배자발생을 측정함과 아울러, 면역시킨 mouse에서, 면역시킨 *Naegleria fowleri* 용출액을 가지고 특이성 배자발생을 측정하였다. 그결과 아연 결핍 식이를 먹인 mouse는 5.5주째에 자극지수가 0.89로 대조군

의 3.31보다 통계적으로 유의하게 낮게 나타났다 ($p < 0.05$) (Table 7).

6. 효소표식면역 검사법의 시행 결과

체액성 면역의 측정 방법으로, 본 연구에서는 혈액내의 Immunoglobulin G를 효소표식면역 검사법으로 측정하였다. 실험식이로 사육한지 9주째 ELISA의 optical density (O.D.) 값은 아연 결핍군의 0.30으로 대조군의 0.69보다 통계적으로 유의적인 차이를 보였다($p < 0.005$) (Table 8). Luecke 등²⁹⁾은 아연이 결핍되었을 때 jerne plaque assay 방법을 이용하여 체액성 면역이 저하됨을 보고한 바 있다. Fraeker 등은⁶⁾ 아연 결핍 식이를 4주간 먹인 mouse의 면역 능력을 측정한 결과, 아연 결핍이 항체 형성에는 영향을 미치지 않는다고 하였으나, 이 연구는 실험 기간이 4주밖에 되지 않았다. 본 연구에서는 9주째에 차이를 나타내었다.

요약 및 제언

식이 아연이 mouse의 면역 능력에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 대표적인 T-cell mitogen인 con A와 PHA를 처리하였으며, 면역 시킨 원충과 동일한 원충의 용출액을 만들어서 특이성 배자 발생을 비교하였다. 또한 체액성 면역을 알아보기 위하여 혈청내 면역글로브린을 효소 표식면역 검사법으로 측정한 바와 다음과 같은 성적을 얻었다.

아연 결핍군과 대조군 mouse의 체중증가를 살펴보면, 아연 결핍군 mouse의 체중은 실험 식이로 사육한지 3주째 부터 대조군보다 작게 나타났으며 ($p < 0.01$), 이같은 차이는 실험이 진행될수록 크게, 나타났다.

아연 결핍군과 대조군 mouse의 장기 무게를 측정한 결과, 아연 결핍군 mouse의 간장과 비장의 무게가 대조군보다 작게 나타났으며, 나머지 장기는 차이를 나타내지 않았다.

Mouse의 비장 림프구에 con A를 처리하였을 때 자극지수는 실험 식이를 먹인지 5주째에 아연 결핍 군이 0.96으로, 대조군의 2.75보다 통계적으로 낮게 나타났으며 ($p < 0.005$), PHA 처리시의 자극지수도 실험 시작 6주째에 아연 결핍군이 0.60으로 대조군의

1.11보다 유의하게 낮았다($p<0.05$).

면역시 사용한 원충과 동일한 원충의 용출액을 처리하여, mouse 비장 림프구의 배자발생을 비교한 결과, 아연 결핍군의 자극지수는 실험식이로 사육한지 5.5주에 0.89로 대조군의 3.31보다 유의하게 낮았다($p<0.05$).

효소표식면역 검사법으로 체액성 면역을 측정한 결과, 실험 식이를 섭취한지 9주째에 아연 결핍군의 혈청내 항체가 0.30으로 대조군의 0.69보다 유의하게 저하되어 있었다($p<0.05$).

이상의 연구 결과에 의하면, 아연이 결핍되었을 때 면역 능력이 저하되는 것으로 사료되나, 앞으로는 아연 결핍시의 생화학적인 연구와 병리적인 연구가 동시에 진행되어야 하겠으며, 아연의 과잉 섭취 문제도 함께 연구되어져야 하리라고 생각된다.

REFERENCES

- 1) Sandstead HH. Zinc nutrition in the United States. *Am J Clin Nutr* 26 : 1251-1260, 1973
- 2) Fernanodes G, Nair M, Onoe K, Tanaka T, Floyd R, Good RA. Impairment of cell mediated immunity functions by dietary zinc deficiency in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 76 : 457-461, 1979
- 3) Prasad AS, Oberleas D. Changes in activities of zinc dependent enzymes in zinc deficient tissues of rats. *J Appl Physiol* 31 : 842-846, 1971
- 4) Dreosti ME, Hurley LS. Depressed thymidine kinase activity in zinc deficient embryos. *Proc Soc Exp Biol Med* 150 : 161-165, 1975
- 5) Terhune MW, Sandstead HH. Decreased RNA polymerase activity in mammalian zinc deficiency. *Science* 177 : 68-69, 1972
- 6) Fraker PJ, Hass SM, Luecke RW. Effect of zinc deficiency on the immune response of the young adult A/J mouse. *J Nutr* 107 : 1889-1895, 1977
- 7) Anderson K, Jamieson A. Primary amoebic meningoencephalitis. *Lancet* 1 : 902-903, 1972
- 8) Richards CS. Two new species of Hartmanella amoeba infecting fresh water mollusks. *J Protozool* 15 : 651-656, 1968
- 9) 황영남, 윤덕진, 임경일, 소진탁. 자유생활아메바의 병원성에 관한 실험적 연구. 연세의대논문집 9 : 182-194, 1976
- 10) 김영중, 김재진, 민득영, 소진탁. 자유생활아메바의 Isozyme 양상과 병원성과의 상관성에 관한 연구. 연세의대논문집 17 : 329-340, 1984
- 11) Report of the american institute of nutrition Ad Hoc Committee on the standards for nutritional studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
- 12) Rogers QS, Harper AE. Amino acid diets and maximal growth in the rats. *J Nutr* 89 : 267-273, 1965
- 13) 안명희. 마우스에서 모체를 통해 얻은 *Naegleria fowleri* 면역에 관한 연구. 연세대학교 대학원 의학과 박사학위 논문, 1986
- 14) Thong YH, Ferrante A, Rowan-Kelly B, Okeefe D. Immunization with live amoebae, amoebic lysate and culture supernatant in experimental *Naegleria meningoencephalitis*. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 74(5) : 570-576, 1980
- 15) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 256-275, 1951
- 16) Voller A, Bidwell DE, Bartlett A. Enzyme immunoassay in diagnostic medicine. Theory and practice. *Bull WHO* 53 : 55-65, 1976
- 17) Wirth JJ, Fraker PJ, Kierszenbaum F. Changes in the levels of marker expression by mononuclear phagocytosis in zinc deficient mice. *J Nutr* 114 : 1826-1833, 1984
- 18) Hildebrandt KM, Luecke RW, Fraker PJ. Effects of maternal dietary zinc on growth and mitogenic responsiveness in suckling mice. *J Nutr* 112 : 1921-1929, 1982
- 19) Fraker PJ, Caruso R, Kierszenbaum F. Alteration of the immune and nutritional status of mice synergy between zinc deficiency and infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Nutr* 112 : 1224-1229, 1982
- 20) DePasquale-Jardieu P, Fraker PJ. Interference in the development of a secondary immune response in mice by zinc deprivation. *J Nutr* 114 : 1762-1769, 1984

- 21) Luecke RW, Olman ME, Baltzer BV. Zinc deficiency in the rat : Effect on serum and intestinal alkaline phosphatase activities. *J Nutr* 94 : 344-350, 1968
 - 22) Chanmugam P, Wheeler C, Whang DH. The effect of zinc deficiency on prostaglandin synthesis in rat testes. *J Nutr* 2066-2072, 1984
 - 23) Bendich A, D'Apolito P, Gabriel E, Machlin LJ. Interaction of dietary vitamin C and vitamin E on guinea pig immune responses to mitogen. *J Nutr* 114 : 1588-1593, 1984
 - 24) Scott PA, Farrell JP. Experimental cutaneous leishmaniasis. I. Nonspecific immunodepression in BALB/C mice infected with leishmania tropica. *J Immunol* 126(6) : 2395-2400, 1981
 - 25) Manson PR, Patterson BA. Proliferative response of human lymphocytes to secretory and cellular antigens of Trichomonas vaginalis. *J Parasitol* 71(3) : 265-268, 1985
 - 26) Diamantstein T, Klos M, Gold D, Hahn H. Interaction between *Entamoeba histolytica* and the immune system. I. Mitogenicity of *Entamoeba histolytica* extract for human peripheral T lymphocytes. *J Immunol* 126(6) : 2084-2086, 1981
 - 27) Ferrante A, Symth C. Mitogenicity of *Naegleria fowleri* extract for murine T lymphocytes. *Immunol* 51 : 461-468, 1984
 - 28) Gross RL, Osdin N, Fong L, Newberne PM. Depressed immunological function in zinc deprived rats as measured by mitogen response of spleen, thymus and peripheral blood. *Am J Clin Nutr* 32 : 1260-1266, 1979
 - 29) Luecke RW, Simonel CE, Fraker PJ. The effect of restricted dietary intake on the antibody mediated response of the zinc deficient A/J mouse. *J Nutr* 108 : 881-887, 1978
-