

Leukocyte adherence inhibition test를 이용한 *Mycobacterium* 屬菌 感作기니픽의 細胞免疫反應의 特異性

박성국 · 전무형 · 이훈준 · 민원기 · 윤용덕*

충남대학교 농과대학 수의학과

농촌진흥청 가축위생연구소*

(1989. 4. 24 접수)

Specificity of cell-mediated immunity in guinea pigs sensitized with *Mycobacterium* spp using the leukocyte adherence inhibition test

Seong-kuk Park, Moo-hyung Jun, Hun-jun Lee, Won-gi Min, Yong-dhuk Yoon*

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Chungnam National University
Veterinary Research Institute, Rural Development Administration*

(Received Apr 24, 1989)

Abstract: In order to measure *in vitro* cell-mediated immunity in the guinea pigs sensitized with the killed bacilli of *Mycobacterium bovis* (AN₅), *M avium* (serotype 2), *M tuberculosis* and *M intracellulare* (serotype 8), leukocyte adherence inhibition (LAI) test was established using the antigens of purified protein derivatives (PPD) tuberculin. By using LAI test, specificity of cell-mediated immune responses of the guinea pigs inoculated with various *Mycobacterium* spp was investigated, and comparison between values of LAI and skin test was also made to evaluate the specificity of the newly designed test.

The results obtained throughout the experiments were summarized as follows;

1. The optimal concentration of PPD antigens for LAI test was 1 to 2mg per ml of medium.
2. When the leukocytes of guinea pigs sensitized with both *M bovis*(AN₅) and *M avium* (serotype 2) for 2 to 8 weeks were incubated with homologous or heterologous PPD antigens, mean values of LAI test were 61.2 ± 11.2 and $65.6 \pm 5.1\%$ in homologous PPD antigens respectively, while 30.0 ± 3.7 and $32.8 \pm 5.7\%$ in heterologous PPD antigens, showing the prominently high value of LAI in the homologous system ($p < 0.01$).
3. When the leukocytes of guinea pigs sensitized with both *M tuberculosis* and *M intracellulare* (serotype 8) for 2 to 8 weeks were incubated with homologous and heterologous PPD antigens, mean values of LAI test were 67.9 ± 2.9 and $66.9 \pm 5.0\%$ in homologous PPD antigens, while 27.4 ± 7.4 and $24.4 \pm 7.1\%$ in heterologous PPD antigens, showing the prominently high value of LAI in the homologous system ($p < 0.01$).
4. Comparing with the specificity of LAI and skin tests on the basis of the value obtained from the homologous system, deviation of reaction was revealed to be 49.5 to 100.2 in LAI test, and -15.9 to 52.0 in skin test.

Key words: cell-mediated immunity, *Mycobacterium* spp, leukocyte adherence inhibition test

*Mycobacterium*屬菌중 특히 *Mycobacterium bovis*의 감염에 기인하여 발병하는 牛結核病의 진단법으로 지연형 과민반응인 skin test가 가장 보편적으로 이용되고 있다.^{1,2} 그러나 菌種간에 존재하는 공통항원에 의한 면역교차반응 때문에 특이성이 낮으며 假陽性 및 假陰性 반응^{3,4} 그리고 無病巢반응^{5,6}이 관찰되어 피내접종 시험법으로 방역을 할 경우 여러 문제점을 야기시키고 있다. 이에 최근 많은 연구자들은 tuberculin 피내반응의 결함을 補完할 목적으로 시험관내 세포면역반응인 白血球遊走抑制反應試驗(leukocyte migration inhibition test : LMI test)^{7,8}과 淋巴球變形試驗(leukocyte transformation test: LT test)^{9,10} 등을 응용하였고, 최근에는 혈청학적 방법으로 酵素免疫吸收試驗(enzyme-linked immunosorbent assay)^{11,12} 등을 이용하고 있다.

대부분의 학자들은 이 시험방법들이 특이성이 높아 skin test의 결점을 감소시키고 假陽性 및 假陰性반응을 줄일 수 있었다고 보고한 바 있다. 그러나 이미 보고된 각종 시험관내 진단법은 술식이 복잡하고 高價의 기기 시설을 필요로 하는 단점이 있고 결과의 再現性이 낮아 아직도 공인된 검사법으로 채택하지 못하고 있다. 그러므로 *Mycobacterium*屬菌의 감염상태를 정확히 판별할 수 있고 보다 신속하고 간편하며 특이성이 높은 시험관내 진단법의 개발이 요망되고 있는 실정이다.

白血球接着阻止試驗(leukocyte adherence inhibition test: LAI test)은 Halliday와 Miller¹³에 의해 murine tumor에서 처음으로 고안되었으며 巨食細胞遊走抑制試驗(macrophage migration inhibition test: MMI test)^{14,15}의 원리를 이용한 시험법으로서 사람과 동물의 腫瘍性,^{16,17} 細菌性,¹⁸ 真菌性 疾病^{19,20} 등과 관련된 세포면역의 연구수단으로 응용된 바 있으며 특이성이 높고 술식이 간편한 것으로 알려져 있다.

저자 등은 기니피크體系에서 LAI test에 대한 기초시험 및 표준화시험을 수행하여 보고한 바 있으며,²¹ 이 정립된 LAI test로 *M bovis*(AN₅), *M avium*(serotype 2), *M tuberculosis* 및 *M intracellulare*(serotype 8)에 감염된 기니피크의 세포면역반응능을 purified protein derivatives(PPD) tuberculin을 抗原으로 이용하여 측정하고 그 결과를 skin test와 비교하여 *Mycobacterium*屬菌감염에 따른 세포면역반응 측정도에 대한 특이성을 究明하고자 일련의 시험을 수행하였기에 얻어진 실험성적을 보고하는 바이다.

使用菌株 및 動物: *Mycobacterium bovis*(AN₅), *Mycobacterium avium*(serotype 2), *Mycobacterium tuberculosis* 및 *Mycobacterium intracellulare*(serotype 8)와 기니피크(Hartley, 350~450g) 25수를 家畜衛生研究所에서 分讓받아 供試하였다.

實驗動物의 感作: *Mycobacterium bovis*(AN₅), *Mycobacterium avium*(serotype 2), *Mycobacterium tuberculosis* 및 *Mycobacterium intracellulare*(serotype 8) 乾燥死菌體를 각각 ml당 5mg이 되도록 Freund's incomplete adjuvant(Difco, USA)에 넣어 乳劑를 만들고 100°C에서 1시간 가열소독한 다음 양쪽 후지 등부 근육내에 마리당 0.3ml씩 0.6ml를 접종하여 감염시켰다.

PPD 抗原: Green²²의 방법을 응용하여 제조한 PPD 抗原을 4°C에서 보존하면서 사용하였다. 백혈구 부착 저지시험을 위하여 PPD 抗原분말 2mg을 牛胎兒血清(Gibco, USA)이 10% 첨가된 Eagle's minimum essential medium(EMEM: Gibco, USA)에 용해시킨 후 4°C에서 보존하면서 供試하였다.

採血: 기니피크를 背位 고정하고 23게이지 주사기를 이용하여 마리당 3ml를 심장 채혈하여 해파린처리(10 IU/ml)된 켈시험관에 수집하였다.

白血球 分離 및 白血球浮遊液: 항응고제 처리된 혈액에 0.15M NH₄Cl을 3倍量되게 가하고 혼든 뒤 4°C에서 20분간 처리하여 적혈구를 파괴시킨 다음 500×g에서 15분간 원심하여 백혈구를 수집하였다. 수집된 백혈구는 Eagle's minimum essential medium(EMEM)으로 3회 세척한 후 牛胎兒血清이 10%로 가해진 EMEM 배지로 1~5×10⁶cells/ml의 농도가 되도록 부유시킨 후 供試하였다. 세포의 활성도(viability)는 0.14% trypan blue와 세포 부유액을 동량 섞어 hemocytometer상에서 dye exclusion에 의해 다음 공식으로 산출하였다.

$$\% \text{ viability} = \frac{\text{No. of cells showing dye exclusion}}{\text{Total no. of leukocytes}} \times 100$$

Leukocyte adherence inhibition(LAI) test : 감염 기니피크 또는 대조 기니피크에서 획득한 백혈구 부유액(100μl)과 PPD 抗原용액(100μl)을 마개가 있는 plastic tube(100mm×50mm)에 넣고 37°C 항온수조에서 30분간 간헐적으로 흔들어서 주면서 반응시켰다. 반응된 세포부유액을 cover slip(12×12mm)이 덮혀진 hemocytometer(Neubauer Improved, West Germany)에 주

입시킨 후 증류수가 흡착된 여과지를 넣은 petri dish (150mm diameter)에 넣고 5% CO₂ 배양기(LEEC Model, UK)에서 60내지 90분간 반응시킨 다음 400배 현미경에서 적혈구 계산부위의 8 squares에 있는 有核細胞를 계산한 후 인산완충식염액(PBS, pH 7.2)에서 조용히 2~3회 수세하면서 cover slip을 부유시켜 제거시켰다. 그리고 새로운 cover slip을 다시 얹고 앞서 계산한 동일 부위에 부착되어 잔류한 백혈구의 숫자를 계산하였다. 대조로 매 시험마다 PPD抗原용액을 가지지 않은 백혈구의 부착능(leukocyte adherence)을 측정하였다.

위에서 얻어진 수치를 아래공식에 적용하여 % leukocyte adherence(% LA), % leukocyte adherence inhibition(% LAI)를 산출하였다. 얻어진 결과는 필요에 따라 t-test로써 유의성을 검정하였다.

$$\% LA = \frac{\text{remaining number}}{\text{initial number}} \times 100$$

$$\% LAI = \left(1 - \frac{\text{mean \% adherence with antigen}}{\text{mean \% adherence with no antigen}} \right) \times 100$$

PPD tuberculin skin test: *Mycobacterium* 屬菌에 감염된 지 8주된 기니픽의 背部를 강제탈모시켜 피부를 노출시켰다. 그뒤 24시간이 지난 다음 감염된 菌에 대한 同種 또는 異種 PPD 抗原용액(1mg/ml)을 10진 희석하여 0.2ml씩 양측 背部피내에 주사하고 대조로 EMEM배지를 주사하였다. 주사 후 24시간, 48시간, 72시간에 종장과 발적된 부위의 직경을 microcalliper를 이용하여 長徑과 短徑을 측정하였다.

結 果

PPD抗原의 濃度에 따른 기니픽 白血球의 接着阻止率: *M bovis*(AN₅)에 감염된 지 3주된 기니픽에서 얻어진 백혈구에 대해 0.5, 1, 2 및 4mg/ml 농도의 PPD

-b抗原을 작용시켰을 경우 나타나는 % LA와 % LAI는 Table 1과 같다.

PPD-b의 농도가 0.5mg/ml일때 % LA 및 % LAI는 41.4 및 38.5%이었고, 1mg/ml에서는 30.6 및 54.7%, 2mg/ml의 경우에는 32.1 및 52.3, 4mg/ml에서는 37.2 및 44.8%이었다.

각종 *Mycobacterium* 屬菌에 感作된 기니픽의 PPD 抗原에 따른 % LAI: *Mycobacterium bovis*(AN₅)에 감염된 기니픽의 % LAI는 Fig 1에서 보는 바와 같이 감염 전 PPD-b와 반응시켰을 때 4.5±6.0이었던 것이 감염 후 2주에 이르러 62.3±5.0으로 증가하였고 8주에 이르러 72.0±5.0의 높은 % LAI치를 보였다. 2주에서 8주 사이의 평균 % LAI치는 61.2±11.2%였다. 異種 抗原인 PPD-a, PPD-t 및 PPD-i와 함께 반응시켰을

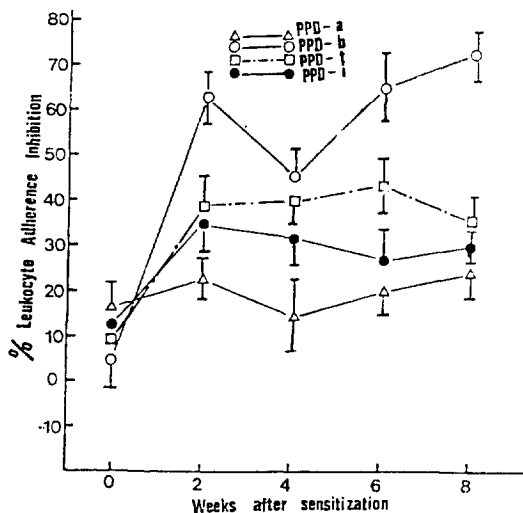


Fig 1. Comparison of leukocyte adherence inhibition (%) against in guinea pigs sensitized with *M bovis*(AN₅). Each point represents the mean value±SD of triplicate.

Table 1. Effects of concentration of PPD-b on adherence of leukocyte from guinea pigs sensitized with *Mycobacterium bovis* for 3 weeks

Exp.	Control	PPD-b(mg/ml)			
		0.5	1	2	4
1	68.3	39.6(42.0)	29.4(57.0)	29.3(57.1)	36.2(46.9)
2	66.7	40.8(38.8)	31.5(52.8)	33.2(50.2)	38.6(42.1)
3	63.2	41.6(34.2)	28.1(55.5)	31.4(50.3)	34.4(45.6)
4	71.3	43.4(39.1)	33.3(53.3)	34.6(51.5)	39.6(44.5)
Mean	67.4	41.4(38.5)	30.6(54.7)	32.1(52.3)	37.2(44.8)

() = % LAI

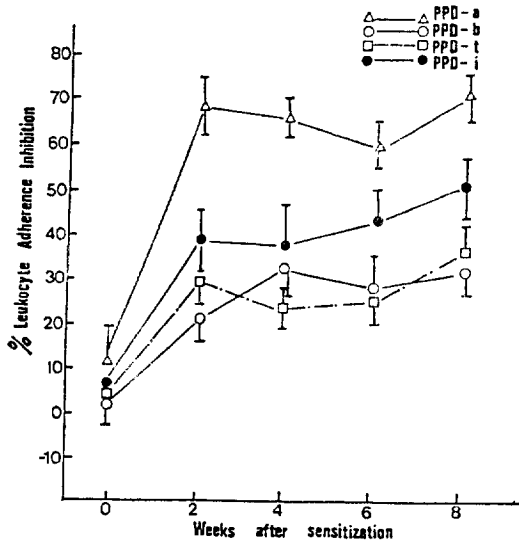


Fig 2. Comparison of leukocyte adherence inhibition(%) against homologous and heterologous antigens in guinea pigs sensitized with *M avium*(serotype 2). Each point represents the mean value \pm SD of triplicate.

때 감각 후 2주에서 8주 사이의 평균 % LAI는 각각 39.4 \pm 3.1, 30.6 \pm 3.5 및 20.1 \pm 4.5%로써 평균 30.0 \pm 3.7%이었다. 감각 후 2주 내지 8주 사이에 同種抗原과 異種抗原사이에 얻어진 % LAI치 간에는 유의한 차($p < 0.01$)가 인정되었다.

M avium(serotype 2)에 감각된 기니픽의 % LAI치는 Fig 2와 같다. 감각 전 PPD-a와 반응시켰을 때는 11.4 \pm 8.0%이었던 것이 감각 후 2주에 이르러 67.5 \pm 5.9%로 증가하였고 6주에서 59.0 \pm 4.5%로 다소 감소하였고, 8주에 이르러 71.0 \pm 4.8%로 최고치에 달하였으며 2주내지 8주 사이의 평균 % LAI치는 65.6 \pm 5.1%였다. 감각 후 2주에서 8주 사이에 異種抗原인 PPD-i, PPD-t, PPD-b로 시험했을 때는 각각 42.8 \pm 5.8, 28.1 \pm 5.8 및 27.5 \pm 5.5%로써 평균 32.8 \pm 5.7%이었다. 감각 후 2주내지 8주 사이에 同種抗原인 PPD-a의 % LAI치와 異種抗原들 간에 % LAI에는 유의한 차($p < 0.01$)가 인정되었다.

*M tuberculosis*에 감각된 기니픽의 % LAI치는 Fig 3에서 보는 바와 같이 감각전 PPD-t와 반응시켰을 때 6.1 \pm 3.4%이었던 것이 감각 후 68.5 \pm 7.5%로 증가하였고 8주에 이르러 71.5 \pm 4.9%로 최고치에 달하였으며 감각 후 2주와 8주 사이의 평균 % LAI는 각각 43.1 \pm 5.1, 21.9 \pm 11.4 및 17.4 \pm 5.7%로써 평균 27.4 \pm 7.4%이었다. 同種抗原과 異種抗原간에 얻어진 %

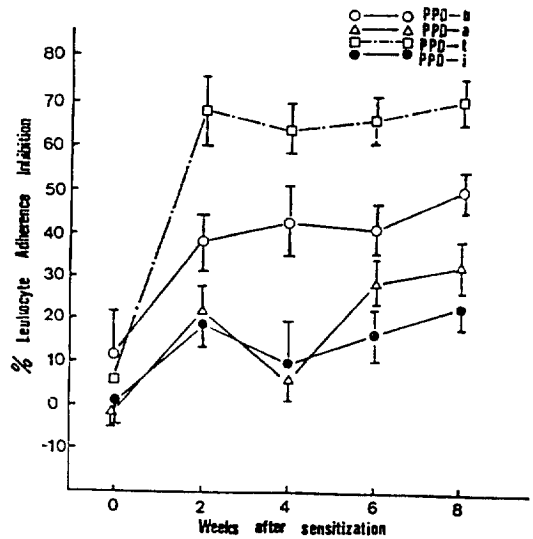


Fig 3. Comparison of leukocyte adherence inhibition (%) against homologous and heterologous antigens in guinea pigs sensitized with *M tuberculosis*. Each point represents the mean value \pm SD of triplicate.

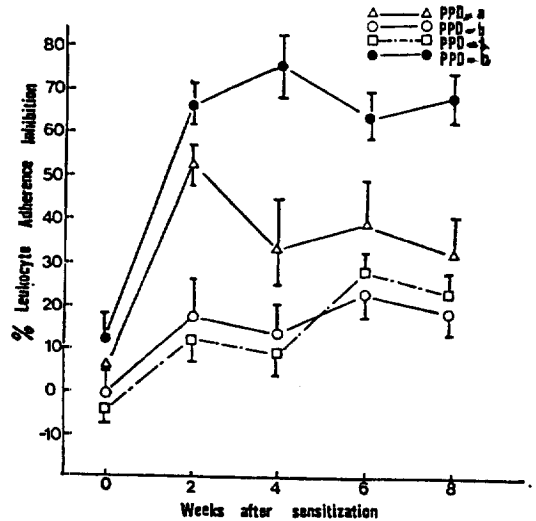


Fig 4. Comparison of leukocyte adherence inhibition (%) against homologous and heterologous antigens in guinea pigs sensitized with *M intracellulare*(serotype 8). Each point represents the mean value \pm SD of triplicate.

LAI치 사이에는 교도의 유의성($p < 0.01$)이 인정되었다.

M intracellulare(serotype 8)에 감각된 기니픽의 % LAI는 Fig 4에서 보는 바와 같이 감각 전 PPD-i와 반

Table 2. Comparison of the specificity of leukocyte adherence inhibition and skin test in guinea pigs sensitized with *Mycobacterium* spp

<i>Mycobacterium</i> sensitized ^a	LAI				Skin test			
	PPD-b	PPD-t	PPD-a	PPD-i	PPD-b	PPD-t	PPD-a	PPD-i
<i>M bovis</i> (AN ₅)	0	49.5	100.2	96.8	0	-15.9	29.6	48.4
<i>M tuberculosis</i>	54.6	0	69.0	83.4	15.7	0	20.7	35.4
<i>M avium</i> (serotype 2)	75.7	68.4	0	55.0	52.0	44.3	0	28.6
<i>M intracellulare</i> (serotype 8)	93.2	78.9	74.2	0	22.4	44.6	28.9	0

a : Data obtained at 8 weeks after sensitization

b : Calculated by the formula: $\frac{\text{value of homologue} - \text{value of heterologue}}{\text{value of homologue}} \times 100$

응시했을 때 $12.5 \pm 5.5\%$ 이었던 것이 감각 후 2주에 이르러 $64.5 \pm 4.5\%$ 로 증가하였고 4주에 이르러 $74.0 \pm 7.0\%$ 로 최고치에 달하였으며, 6주에서 $62.5 \pm 5.3\%$ 로 감소하는 경향을 나타냈다. 이 기간중 평균 % LAI치는 $66.9 \pm 5.0\%$ 이었다. 異種抗原인 PPD-a, PPD-t 및 PPD-b와 반응시켰을 때 감각 후 2주에서 8주 사이에 얻어진 평균 % LAI는 각각 38.5 ± 8.8 , 16.9 ± 8.6 및 $17.8 \pm 4.1\%$ 로써 평균 $24.4 \pm 7.1\%$ 이었다. 감각 2주 이후 同種抗原과 異種抗原에서 얻어진 % LAI치 사이에는 고도의 유의성이 인정되었다($p < 0.01$).

LAI test와 skin test의 比較 : *M bovis*(AN₅), *M avium*(serotype 2), *M tuberculosis* 및 *M intracellulare*(serotype 8)를 기니픽에 감각시킨 후 8주 때 LAI test와 遲延型過敏反應인 skin test간의 특이성을 비교하였다. 同種抗原에서 얻어진 수치를 기준으로 하여 異種抗原의 반응치를 비교한 바 Table 2에서 요약한 바와 같이 LAI test로는 위의 4가지 항원에 대해 49.5~100.2의 차이가 있었고, skin test에서는 -15.9~52.0의 차이가 인정되었다.

考 察

현재 결핵병 진단에 가장 보편적으로 응용되고 있는 skin test는 遲延型過敏反應에 의한 생체 세포성 면역상태 측정법^{1,2}으로 腫瘍免疫,^{23,24} 微生物感染,^{25,26} 알러지성 疾患 등²⁵에 응용되고 있다. 그러나 假陰性, 假陽性, 또는 無病巢의 출현으로 인하여 skin test의 특이성이 항상 문제로 대두되고 있다.^{3,4,5,6}

이와 같은 단점을 補完하기 위해 여러 시험관내 세포성 면역반응시험이 시도된 바 있다.^{7,8,9,10} LAI test는 시험관내 세포성 면역반응시험중의 한 방법으로서 그 원리는 T 및 B-lymphocytes 등이 抗原과 반응하여 lymphokines, 특히 leukocyte adherence inhibition factor를 분비하여 인접세포의 부착을 저지시킨다는 사

실에 토대를 두고 있다.^{18,28,29} 또한 LAI test는 특이성이 높고 술식이 간편하며 또한 시험비용이 저렴하고 세균오염의 가능성이 낮은점이 그 장점이다.^{13,30}

저자들은 Halliday와 Miller¹³에 의해 hemocytometer를 이용하여 개발된 LAI test를 *Mycobacterium* 屬菌 감염에 따른 세포성 면역반응 측정기에 응용하고, 그 특이성을 규명하고자 실험을 고안하였다. 예비적으로 수행한 LAI test用 PPD抗原농도 시험에서는 1mg/ml 내지 2mg/ml가 적절한 것으로 나타났다(Table 1). 이 결과로 보아 PPD抗原의 농도가 LAI반응에 영향을 미치는 것이 확인되었으며 高濃度の PPD抗原은 백혈구에 독성이 있어 LAI반응에 영향을 주는 것으로 사료되었다.

M bovis(AN₅), *M avium*(serotype 2), *M tuberculosis*, *M intracellulare*(serotype 8)에 감각된 기니픽에서 LAI test를 실시한 결과 同種抗原에 대한 특이성이 높은 것으로 판명되었고 LMI test와 LT test에서 보고된 결과⁷와 유사하여 LAI test를 이용한 結核菌感染宿主의 세포성 면역상태의 측정이 가능하다고 생각되었다. 또한 반응치간에 나타나는 偏差는 대부분의 세포성 면역반응시험에서 認知되는 것으로서 본 결과에도 비교적 큰 偏差가 관찰되었으며 이에 대해서는 더욱 補完된 시험이 필요하다고 생각되었다.

각종 *Mycobacterium* 屬菌 감각기니픽에 대한 LAI test와 skin test를 직접 비교한 결과(Table 2) LAI test가 skin test보다 異種抗原간에 더욱 현저한 反應値의 차이를 보여서 *Mycobacterium* 屬菌에 감각된 기니픽의 세포성 면역상태를 측정하는데 LAI test가 skin test 보다 특이성이 높다는 사실이 밝혀졌다.

LAI test에서 effector cells은 여러학자들에^{18,29} 의해 B-lymphocyte, macrophage 또는 polymorphs로 보고된 바 있다. 기니픽體系에서는 저자등²¹이 행한 기초시험에서 주로 polymorphs가 effector cell인 것으로 관

찰되었다. 그러나 *Mycobacterium*屬菌에 감염된 기니픽에서 채취된 백혈구로 행한 지금까지 성적으로는 effector cells 및 세포-세포간의 상호연관성에 대해서는 규명되지 않은 점이 있으며 이 점에 대해서는 더욱 연구가 되어야 한다고 사료된다.

結 論

M bovis(AN₅), *M avium*(serotype 2), *M tuberculosis*, *M intracellulare*(serotype 8)의 乾燥死菌體를 기니픽에 접종시켜 감염시킨 다음 세포성 면역반응을 시험관내에서 측정하기 위하여 purified protein derivatives(PPD) tuberculin을 抗原으로 이용하여 leukocyte adherence inhibition(LAI) test를 수행하여 감염된 기니픽의 세포성 면역반응에 대해 시험하고 그 결과를 skin test와 비교하여 LAI test의 특이성을 규명하고 저 일련의 시험을 수행하였다.

실험을 통해 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. LAI test에 이용된 PPD抗原의 적정농도는 1mg/ml과 2mg/ml이었다.

2. *M bovis*(AN₅) 및 *M avium*(serotype 2)을 감염시킨 후 2주내지 8주된 기니픽의 백혈구에 대해 同種 PPD抗原으로 시험하였을 때의 평균 % LAI치는 각각 61.2±11.2 및 65.6±5.1%이었고 異種抗原을 처리한 경우는 각각 30.0±3.7 및 32.8±5.7%로써 同種抗原 처리시에 % LAI가 현저히 높았다($p < 0.01$).

3. *M tuberculosis* 및 *M intracellulare*(serotype 8)를 감염시킨 후 2주내지 8주된 기니픽의 백혈구에 대해 同種 PPD抗原으로 반응시켰을 때 평균 % LAI치는 각각 67.9±2.9% 및 66.9±5.0%이었고 異種 PPD抗原의 경우는 각각 27.4±7.4% 및 24.4±7.1%로써 同種抗原처리시 % LAI가 유의하게 높았다($p < 0.01$).

4. LAI test와 skin test를 비교하여 同種抗原에 얻어진 수치를 기준으로 하여 異種抗原의 반응치를 비교한 바 반응의 편차는 LAI test에서 49.5~100.2로 skin test(-15.9~52.0)보다 높게 나타났다.

參 考 文 獻

- Muscoplat CC, Thoen CO, Chen AW, et al. Development of specific lymphocyte immunostimulation and tuberculin skin reactivity in swine infected with *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*. *Am J Vet Res* 1975;36:1167-1171.
- Anja A, Kostiala I. Delayed hypersensitivity in the guinea pig immunized with killed tubercle bacilli in adjuvant. 2. The effect of tuberculin purified protein derivatives concentration of peritoneal cell migration. *Acta Path Microbiol Scand Section B* 1971;79:281-284.
- Choi CS, Kim JH, Yoon YD. Sensitivity of repeat tuberculin test with bovine PPD, Seibert's fraction A(SFA) and avian PPD tuberculins in visible and non-visible lesion reactor cattle to HCSM tuberculin. *Kor J Vet Res* 1984;24(1):50-57.
- Francis J, Seiler RT, Wilkie IW, et al. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. *Vet Rec* 1978;103:420-435.
- Hagan WA. The no-lesion case problem in tuberculosis eradication program. *Cornell Vet* 1941;21:163-176.
- Paterson AB. The incidence and causes of tuberculin reactions in non-tuberculosis cattle. *Adv Tuberc Res* 1956;7:101-129.
- 尹用德. 試驗管内 細胞 및 體液免疫反應에 의한 牛 結核 診斷에 關한 研究. 東國大學校 大學院 理學 博士論文 1986.
- 金鍾冕. Tuberculin 陽性無病巢乳牛의 鑑別診斷에 關한 實驗的 研究. 大韓獸醫學會誌 1975;16(2):151-158.
- 윤용덕, 김종만, 김동성 등. 우결핵병보조진단법 개발을 위한 lymphocyte transformation. 농사시험연구보고 1981;23:101-108.
- Ayivor MD, Muscoplat CC, Chen AW, et al. Whole blood lymphocyte stimulation for diagnosis of tuberculosis in cattle. *Am Assoc Vet Lab Diagn Proc* 1976;19:351-360.
- Nassau E, Parsons ER, Johnson GD. The detection of antibodies to *Mycobacterium tuberculosis* by microplate enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). *Tubercle* 1976;57:67-70.
- Thoen CO, Armbrust AL, Hopkins MP. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies in swine infected with *Mycobacterium avium*. *Am J Vet Res* 1979;40:1096-1099.
- Halliday WJ, Miller S. Leukocyte adherence inhibition: A simple test for cell-mediated tumor immunity and serum blocking factors. *Int J Cancer* 1972;9:477-483.

14. Halliday WJ. Blocking effect of serum from the tumor-bearing animals on macrophage migration inhibition with tumor antigens. *J Immunol* 1971;106:855-857.
15. Maurer BA, Dean JH, McCoy JL, *et al.* Brief Communication: Cell-mediated immunity in mice against papain-solubilized histocompatibility and tumor-specific antigens by a macrophage migration inhibition microassay. *J Nat Cancer Inst* 1976;56:1075-1078.
16. Halliday WJ, Maluish A, Isbister WH. Detection of anti-tumor cell-mediated immunity and serum blocking factors in cancer patients by the leukocyte adherence inhibition test. *Br J Cancer* 1974;29:31-35.
17. Halliday WJ, Maluish A, Miller S. Blocking and unblocking of cell-mediated anti-tumor immunity in mice, as detected by the leukocyte adherence inhibition. *Cellular Immunology* 1974; 10:467-475.
18. Holt PG, Roberts LM, Fimmel PJ, *et al.* The L.A.I. Microtest: A rapid and sensitive procedure for the demonstration of cell-mediated immunity *in vitro*. *J Immunological Methods* 1975;8:277-288.
19. Walters BAJ, Beardmore GL, Halliday WJ. Specific cell-mediated immunity in the laboratory diagnosis of dermatophytic infections. *Br J Dermatology* 1976;94:55-61.
20. Walters BAJ, Chick JED, Halliday WJ. Cell-mediated immunity and serum blocking factors in patients with chronic dermatophytic infections. *Int Arch Allergy* 1974;46:849-857.
21. 박성국, 전무형, 김교준 등. 정상기니픽 백혈구의 초자관 부착능에 관련된 요인. 충남대학교 농업기술연구보고 1988;15:65-71.
22. Green HH. Weybridge PPD tuberculin. *Vet J* 1946;102:267.
23. Fass L, Herberman RB, Ziegler RB, *et al.* Cutaneous hypersensitivity reactions to autologous extracts of malignant melanoma cells *The Lancet* 17 1970;17(1):116-118.
24. Halliday WJ, Webb M. Delayed hypersensitivity to chemically induced tumors in mice and correlation with an *in vitro* test. *J Natl Cancer Inst* 1969;43:141-149.
25. 윤용덕, 김금화, 손봉환. 牛結核病檢索結果 및 tuberculin 반응에 관계되는 諸要因에 對하여. 한국수의공중보건학회지 1979;3:1-8.
26. Mackness GB. Cellular resistance to infection. *J Exp Med* 1962;116:381-406.
27. Gray DF, Jennings PA. Allergy in experimental mouse tuberculosis. *Amer Rev Tuberc* 1955;72: 171-195.
28. Powell AE, Sloss AM, Smith RN. Leukocyte adherence inhibition: A specific assay of cell-mediated immunity dependent on lymphokine-mediated collaboration between T lymphocytes. *J Immunol* 1986;120(6):1957-1966.
29. Creemers P. The role of leukocyte subpopulations in the indirect leukocyte adherence inhibition assay in the mammary tumor virus system. *European J Immunol* 1977;7:48-53.
30. Jennings PA. Leukocyte adherence inhibition: A microassay demonstrating antigen recognition in cattle. *Research in Veterinary Science* 1979; 26:111-113.