

Toxoplasma gondii 감염 마우스에 있어서의 아세포화 반응 및 항체가 변화

충남대학교 의과대학 기생충학교실

신대환 · 이영하 · 나영언 · 권두성

요 약 : *Toxoplasma gondii*의 약독주인 Beverley주, Fukaya주 및 ME49주를 각각 감염시킨 BALB/c 마우스에서 발현되는 세포매개성 및 체액성 면역반응을 비교 관찰할 목적으로 매주 1회씩 10주에 걸쳐 각각 3마리씩 취하여, 소정의 과정을 거쳐 준비한 비장세포에 concanavalin A(Con. A), lipopolysaccharide(LPS) 및 *Toxoplasma* lysate를 처리한 후 아세포화 반응의 정도를 [³H]-thymidine의 전입량으로 측정, 평가하는 한편, 혈청내 IgG 및 IgM 항체가를 효소결합면역흡착법(ELISA)으로 측정, 분석하였다. Con. A 및 *Toxoplasma* lysate로 처리시 비장세포의 아세포화 반응은 3개주 감염군 모두 대조군에 비해 감염후 1주부터 유의하게 감소되었으나, LPS로 처리시 3개주 감염군 모두 대조군에 비해 유의한 차이가 없었다. 또한 각 주별 감염 마우스 상호간에도 유의한 차이가 없었다. 혈청내 IgG 항체가는 3개주 감염군 모두 감염후 2주부터 7주까지 계속적으로 증가한 후 그 항체가가 지속되었으며, IgM 항체가는 1주에서 4주 사이에 현저히 높았다. 그러나 각 주별 감염 마우스의 혈청내 IgG 및 IgM 항체가 상호간에는 유의한 차이가 없었다. 이상의 성적으로 보아 *T. gondii*의 Beverley주, Fukaya주 및 ME49주를 각각 감염시킨 마우스에 있어 감염 초기에는 세포매개성 면역반응이 억제되며, 체액성 면역반응에 있어 IgM 항체는 감염 초기에 증가하였고 IgG 항체는 초기부터 높은 수준으로 장기간 지속됨을 알 수 있었다.

Key words: *Toxoplasma gondii*, mouse, blastogenesis, serum antibody, ELISA

서 론

*Toxoplasma gondii*는 Nicolle and Manceaux(1908)에 의하여 북아프리카산 설치류의 일종인 *Ctenodactylus gundi*에서 최초로 발견된 병원성 원충이다. 고양이와 중속주이고, 사람을 비롯하여 각종 포유동물, 조류 등이 중간숙주로 되어 있는 인수공통기생충으로 오늘날까지 사람이나 기타 동물로부터 검출, 보고된 예들은 동일종(species)으로 취급되고 있어 한개 종만이 존재하는 것으로 알려져 있다(서, 1975). 그러나 본충을 실험적으로 마우스에 감염시켰을 때 발현되는 독력의 정도와 질병 양상의 특징에 따라서 많은 주(strain)로 구분된다(Ware and Kasper, 1987).

본충은 면역반응의 발현에 중요한 역할을 하고 있는 데식세포 내부에서 생존할 수 있는 특성을 가지고 있으므로 면역학적 견지에서 큰 관심의 대상이 되고 있다. 따라서 감염된 인체나 동물에서 야기되는 본충에 대한 면역반응의 근본 성상을 규명하기 위한 연구가 여러 측면에서 수행되어 왔다. Bloomfield and Remington(1970)은 tube polyacrylamide gel electrophoresis

(tube PAGE)를 이용, 항원성을 분석한 경우 주에 따른 특별한 차이를 발견할 수 없었다고 하였으나, Handman *et al.*(1980)은 2차원적 PAGE를 이용, 분석할 경우 주에 따라 항원성의 차이가 인정된다고 하였다. 또한 생리 화학적으로는 각 주의 penetration enhancing factor가 병원성의 차이를 나타낸다고 하였으면(Schwartzman, 1986), Western blot을 이용하여 분석하면 각 주는 항원의 대부분을 공통적으로 가지고 있으나 소수의 주특이 항원(strain-specific antigen)이 인정된다고 하여(Kasper and Ware, 1985), 주에 따른 항원성에 관한 의견이 다양하다.

T. gondii 감염시 숙주는 세포내 병원체 및 암세포에 대하여 비특이적 저항을 증가시키지만 다른 면역학적 반응은 억제시킨다고 한다(Luft, 1989). 본충 감염 마우스에 있어서 세포매개성 면역반응에 대한 연구 방법으로 림프구의 아세포화 반응이 많이 활용되고 있는데 이는 분열유발인자나 항원으로 처리한 림프구가 아세포의 형태 혹은 기능으로 되는 정도를 [³H]-thymidine의 전입량으로 평가하는 방법으로 Nowell(1960)에 의하여 처음 도입되어 오늘날 생화학, 세포 생물학 유전학, 면역학, 바이러스학 및 임상 의학 등 여러 분

야의 연구에 널리 이용되고 있다. 본층 감염 마우스에 있어서의 체액성 면역반응에 관한 연구로 합체 형성은 전형로(classical pathway)를 통하여 보체를 활성화시킴으로써 형성되며(Suzuki *et al.*, 1971), 면역 혈청을 감염된 마우스에 접종하면 숙주의 방어면역이 증가됨이 밝혀진 바 있다(Johnson *et al.*, 1983; Krahenbuhl *et al.*, 1972).

지금까지의 *T. gondii* 감염에 관한 면역학적 연구를 종합해 보면 세포매개성 및 체액성 면역반응의 발현은 감염 숙주의 종류, 주의 특력 내지 병원성, 충체의 투여수 등의 차이에 따라 상이함을 알 수 있었다(Chan *et al.*, 1986). 그러나 본층의 약독주인 Beverley주, Fukaya주 및 ME49주로 감염된 숙주에 있어서의 면역반응은 거의 알려진 바 없다. 이에 저자들은 *T. gondii*의 약독주인 이들 3개주 각각으로 감염시킨 마우스의 비장세포를 분열유발인자 및 항원으로 처리시 경시적으로 나타날 아세포화 반응 및 혈청내 항체가의 변동을 관찰하여, 각 주의 감염에 따른 세포매개성 및 체액성 면역반응의 차이를 조사하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

[1] 실험재료

1. 실험동물 : 생후 6~7주 된 18 gm 내외의 음성 BALB/c 마우스를 한국화학연구소로부터 분양받아 동물사육실에서 통상적인 방법으로 사육, 123마리를 사용하였다.

2. *Toxoplasma gondii*주 : *T. gondii*의 약독주인 Beverley주, Fukaya주 및 ME49주는 일본 Jikei대학의 기생충학교실로부터 분양받아 마우스에 감염시켜 실험군으로 사용하였으며, 강독주인 RH주는 항원으로 이용할 *Toxoplasma lysate*의 제조에 각각 사용하였다.

3. *Toxoplasma gondii*의 감염 : Beverley주, Fukaya주 및 ME49주에 감염된 마우스의 뇌조직을 적출한 후 생리식염수(0.85% NaCl) 5ml를 첨가하여 마쇄하였으며, 각 주별로 씨스트를 hemocytometer로 계산하여 마우스당 약 200개씩 복강내로 주입, 감염시켜 실험군으로 사용하였다.

정상 마우스의 뇌조직을 적출한 후 생리식염수 5ml를 첨가하여 마쇄한 현탁액 0.2ml씩을 복강에 주입, 대조군으로 사용하였다.

4. *Toxoplasma lysate*의 제조 : RH주를 마우스의 복강내에 접종, 감염시킨 3~4일후에 마우스의 복강내로 생리식염수를 넣어 충체가 함유된 복강액을 얻어 700×g로 5분동안 2회 원심분리하고 그 침사에 생리식염수 2ml를 혼합하여 부유액을 만든다. 이 부유액을 40% Percoll(Sigma, U.S.A.) 위에 조심스럽게 중첩시킨 후 4°C, 4,500×g로 20분간 원심분리하여 침사를 얻었다. 이 침사에 생리식염수를 가하여 3회 원심제

후 -20°C로 10일간 냉동 보관하여 살충하였으며, 녹인후 충체를 Sonicator(Ultrasonic Processor, U.S.A.)로 분쇄하고 4°C, 17,500×g로 30분간 원심분리하여 그 상층액을 0.2µm pore size의 filter(Gelman Sciences, U.S.A.)로 여과하여 항원으로 사용할 *Toxoplasma lysate*를 제조하였다. 단백질 농도는 Bio-Rad assay kit로 측정하였고 bovine serum albumin을 표준단백으로 사용하였다(Bradford, 1976).

[2] 실험 방법

실험군과 대조군의 마우스를 10주에 걸쳐 매주 3마리씩 무작위로 취하여 ether 마취하에 비장 및 혈액을 채취하여 다음과 같은 방법으로 실험하였다.

1. 비장세포의 아세포화 반응

(1) 분열유발인자 및 항원 : 비특이적 분열유발인자로 concanavalin A(Con. A; Sigma, U.S.A.)와 lipopolysaccharide(LPS; Sigma, U.S.A.)를 사용하였고 항원으로 본 실험실에서 제조한 *Toxoplasma lysate*를 사용하였다. 이들 각각을 1주된 대조군 마우스의 비장세포에 처리하여 그 적정 농도를 측정하였다.

(2) 비장세포의 분리 : 마우스의 복막을 절개한 후 비장을 적출하여 petridish에 넣고 RPMI 1640 배지(GIBCO, U.S.A.)를 넣어 60-mesh stainless sieve로 마쇄하여 비장세포 부유액을 만들었다. 이 부유액에 0.16M Tris-NH₄Cl(pH 7.2)을 넣어 적혈구를 용혈시킨 후 RPMI 1640배지로 3회 원심제거하여 비장세포를 분리하였으며 trypan blue염색하여 생존율이 95%이상일 경우 배양에 사용하였다.

(3) 비장세포의 배양 : 분리한 비장세포를 비동화시킨 10% fetal bovine serum, penicillin G 100U/ml 및 streptomycin 100µg/ml을 첨가한 RPMI 1640 배지에 각 주별 감염 마우스의 비장세포수가 1×10⁶/ml이 되도록 조절하여 바닥이 편평한 96 well culture plate(Nunc, Denmark)의 각 well에 100µl씩 분주하였다. 여기에 5.0µg/ml의 Con. A, 25.0µg/ml의 LPS 및 10.0µg/ml의 *Toxoplasma lysate*를 각각 100µl씩 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ 항온 항습기에서 66시간 배양하였다.

(4) [³H]-thymidine 전입량 측정 : 비장세포를 66시간 배양후 각각의 well에 [methyl-³H]-thymidine(2 Ci/mmol, 74.0GBq/mmol, NEN Product, U.S.A.)을 1µCi씩 넣어 18시간 더 배양한 후 세포수집기를 이용하여 glass fiber 여과지에 세포를 수집, 건조시킨 후 scintillation vial에 3.0ml의 scintillation cocktail 액을 넣어 liquid scintillation counter로 비장세포에 전입된 [³H]-thymidine의 1분간 방사능량(counts per minute, CPM)을 측정하였고, 다음과 같은 공식으로 자극지수(stimulation index, SI)를 산출, 아세포화 반응을 측정하였다.

$$\text{자극지수(SI)} = \frac{\text{처리된 비장세포의 방사능량(CPM)}}{\text{처리안된 비장세포의 방사능량(CPM)}}$$

각각의 비장세포의 아세포화 반응은 3회 중복 검사(triplicate method)하였다.

2. 혈청내 항체가

마우스의 비장을 적출하기 전 심장에서 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 Voller *et al.*(1976)이 시행한 효소결합면역흡착법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)에 준하여 혈청내 IgG 및 IgM 항체를 측정하였다.

Toxoplasma lysate를 0.05M carbonate-bicarbonate buffer(pH 9.6)로 단백질 농도가 10 μ g/ml(Bradford assay)가 되도록 희석하여 96 well microplate(Titertek, U.S.A.)의 각 well에 100 μ 씩 분주한 후 4 $^{\circ}$ C로 하룻밤을 반응시켜 항원을 흡착시켰으며, 증류수로 2회 세척후 실온에서 1% bovine serum albumin(BSA)/phosphate buffered saline(PBS) buffer로 불필요한 항원을 차단시켰다. PBS/Tween 20으로 3회 세척후 0.1% BSA/PBS/Tween 20으로 마우스 혈청을 IgG 측정용은 1:100으로, IgM 측정용은 1:50으로 희석시켜 100 μ 씩 분주 후 실온에서 2시간 반응시켰다. PBS/Tween 20으로 3회 세척 후 0.1% BSA/PBS/Tween 20으로 1:1,000으로 희석시킨 horseradish peroxidase conjugated goat anti-mouse IgG와 IgM(Bio-Rad, U.S.A.)을 각각 150 μ 씩 분주하여 실온에서 2시간 반응시켰다. PBS/Tween 20으로 3회, 증류수로 2회 세척후 o-phenylenediamine 기질액용 150 μ 씩 분주하였으며 20분후 8N H₂SO₄를 20 μ 씩 넣어 반응을 정지시켰다. 흡광도는 automatic ELISA reader(microline 182 plus, Okidata Co., Japan)를 이용하여 490nm에서 측정하였다.

3. 통계 처리

실험 성적은 평균 \pm 표준오차(Mean \pm S.E.) 혹은 평균으로 표시하였고 유의성 검정은 분산분석을 이용하였으며 유의수준은 p<0.05로 하였다.

성 적

1. 분열유발인자 및 항원의 적정 농도

분열유발인자 및 항원의 적정 농도를 조사하기 위해 1주된 대조군 마우스의 비장세포에 Con. A를 2.5, 5.0, 7.5 및 10.0 μ g/ml로, LPS를 12.5, 25.0, 37.5 및 50.0 μ g/ml로, *Toxoplasma* lysate를 5.0, 10.0, 15.0 및 20.0 μ g/ml로 각각 처리한 결과 Con. A는 5.0 μ g/ml, LPS는 25.0 μ g/ml, *Toxoplasma* lysate는 10.0 μ g/ml 농도에서 가장 높은 CPM 값을 나타냈다.

2. 비장세포의 아세포화

(1) Concanavalin A에 대한 자극지수 : Concanavalin A처리시 대조군의 자극지수는 실험기간중 24.8 \pm 6.4~70.0 \pm 10.5 범위였으며 Beverley주, Fukaya주 및 ME49주를 감염시킨 실험군의 자극지수는 각각 19.2 \pm 3.7~51.9 \pm 7.8, 15.4 \pm 4.6~45.1 \pm 4.2 및 17.0 \pm 3.3~

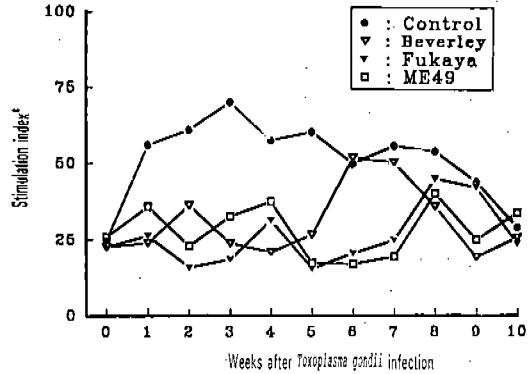


Fig. 1. Stimulation index of concanavalin A-treated splenocytes from *Toxoplasma gondii* infected and control mice(mean).

* Stimulation index =

$$\frac{\text{counts per minute of stimulated splenocytes}}{\text{counts per minute of unstimulated splenocytes}}$$

40.4 \pm 9.8 범위였다. 실험군의 자극지수를 대조군과 비교시 Beverley주는 감염후 5주까지 유의하게 감소하였으나 감염 6,7주에는 유의한 차이를 나타내지 않았고, Fukaya주는 실험 8주까지, ME49주는 실험 9주까지 유의하게 감소하였다. 각 주별 감염 마우스의 자극지수를 상호 비교시 전체적으로 유의한 차이가 없었으나, 기간별로 상호 비교시 Beverley주 감염군은 감염 6,7주에 유의하게 증가하였다(Fig. 1).

(2) Lipopolysaccharide에 대한 자극지수 : Lipopolysaccharide

처리시 대조군의 자극지수는 실험기간중 8.7 \pm 2.4~25.8 \pm 12.0 범위였으며 Beverley주, Fukaya주 및 ME49주를 감염시킨 실험군의 자극지수는 각각 4.3 \pm 2.1~24.5 \pm 8.1, 6.4 \pm 3.4~18.9 \pm 4.9 및 5.1 \pm 3.3~24.3 \pm 10.6 범위였다. 실험군의 자극지수를 대조군과 비교시 유의한 차이를 발견할 수 없었으며, 또

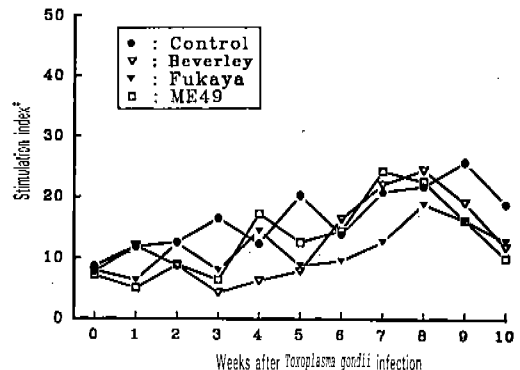


Fig. 2. Stimulation index of lipopolysaccharide-treated splenocytes from *Toxoplasma gondii* infected and control mice(mean).

* Stimulation index: refer to Fig. 1.

한 각 주별 감염 마우스의 자극지수 상호간에도 유의한 차이가 없었다(Fig. 2).

(3) *Toxoplasma lysate*에 대한 자극지수 : *Toxoplasma lysate* 처치시 대조군의 자극지수는 실험기간중 $7.6 \pm 3.8 \sim 18.6 \pm 7.1$ 범위였으며 Beverley주, Fukaya주, 및 ME49주를 감염시킨 실험군에 있어서의 자극지수는 각각 $3.2 \pm 1.8 \sim 9.8 \pm 4.3$, $2.0 \pm 1.1 \sim 8.1 \pm 3.9$ 및 $2.4 \pm 1.3 \sim 8.6 \pm 3.7$ 범위였다. 실험 군의 자극지수를 대조군과 비교시 감염후 1주부터 유의한 감소를 보였으나, 각 주별 감염 마우스의 자극지수 반응 상호간에는 유의한 차이가 없었다(Fig. 3).

3. 혈청내 항체가

(1) Immunoglobulin G 항체가 : Beverley주, Fukaya주, 및 ME49주를 감염시킨 마우스의 혈청내 IgG 항체가는 감염 2주 이후부터 계속적으로 증가하여 7주에 각각 1.08 ± 0.17 , 0.91 ± 0.23 및 1.06 ± 0.19 로 최고치를 나타냈고, 그후 10주까지는 큰 변동을 보이지

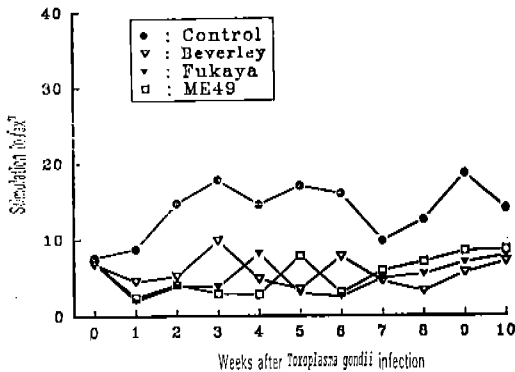


Fig. 3. Stimulation index of *Toxoplasma lysate*-treated splenocytes from *Toxoplasma gondii* infected and control mice(mean).

* Stimulation index: refer to Fig. 1.

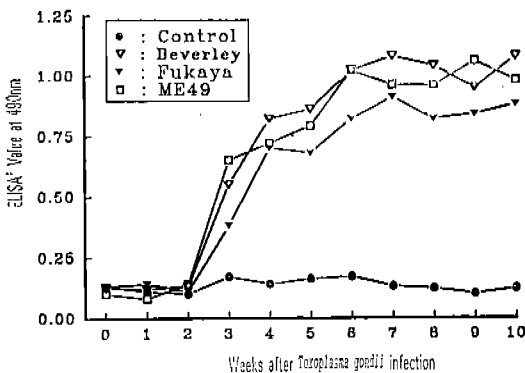


Fig. 4. Serum IgG antibody titers as measured by ELISA in *Toxoplasma gondii* infected and control mice(mean).

ELISA*: enzyme-linked immunosorbent assay

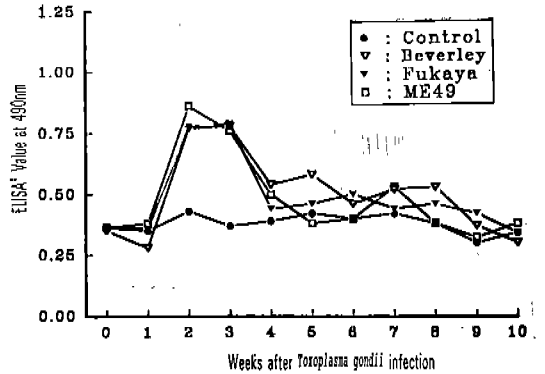


Fig. 5. Serum IgM antibody titers as measured by ELISA in *Toxoplasma gondii* infected and control mice(mean).

ELISA*: refer to Fig. 4.

않았다. 3개주의 IgG 항체가 상호간에는 유의한 차이가 없었다(Fig. 4).

(2) Immunoglobulin M 항체가 : Beverley주, Fukaya주 및 ME49주를 감염시킨 마우스의 혈청내 IgM 항체가는 감염 1주 이후부터 증가하여 감염후 2~3주에 각각 0.78 ± 0.18 , 0.79 ± 0.20 및 0.86 ± 0.16 으로 가장 높았으며 4주 이후에는 정상치로 회복되는 경향을 보였다. 3개주의 IgM 항체가 상호간에는 유의한 차이가 없었다(Fig. 5).

고 찰

*T. gondii*는 독력의 정도에 따라 다양한 주로 구별되고 있는데 독력이 강한 주들은 마우스에 있어 고도의 병원성을 보이며 다른 실험동물에서도 심한 질병을 나타내지만, 대부분의 주들은 약독주이어서 이들은 숙주의 혈액내 출현 수도 적고 조직내 침범수도 적으며 잠복기간도 비교적 짧아 그 병원성도 경미하다. 이러한 약독주는 형태학적으로는 포낭벽의 limiting membrane이 강독주의 것보다 두꺼우며(Matsubayashi and Akao, 1963), 약독주를 마우스에 계속적으로 계대 배양하던 병원성이 증가되기도 한다고 보고하였다(Jacobs and Melton, 1955). 본 실험에 사용된 Beverley주, Fukaya주 및 ME49주를 마우스 복강내에 접종, 감염시켰을때 모든 예에서 별다른 증상을 보이지 않았을 뿐만 아니라 죽은 예도 없어 병원성이 매우 낮은 것으로 생각되었다. 또한 감염 15~20일 이후부터 마우스의 뇌조직에서 씨스트가 검출되었는데 이는 홍(1974)의 보고와 일치하는 결과를 보였다.

세포매개성 면역반응은 항원에 의해 자극된 T-림프구 또는 lymphokine에 의해 이루어지는 특이 면역반응으로 순환 항체 혹은 혈청의 보체에 의존하지 않으며, *in vivo*에서는 감염방어면역, 암면역, 지역형 과민

반응, 이식면역 등이 있으며, *in vitro*에서는 대식세포 이동억제, 림프구의 아세포화, 혼합 림프구 배양반응, 세포독성 등이 있다(Rose and Friedman, 1982). 그중 림프구의 아세포화 반응은 휴지상태에 있던 림프구가 처음 감각시킨 항원이나 비특이 분열유발인자 등의 자극에 의하여 대형화되고 DNA합성이 왕성하게 진행되는 아세포로 되는 정도를 DNA의 [³H]-thymidine 전입량으로 측정, 관찰하는 방법으로서 *T. gondii*(Strickland et al., 1975) 외에도 malaria 원충(Michel et al., 1979), *L. braziliensis*(Barbier et al., 1985), *T. cruzi*(Dean and Kuhn, 1980), *E. histolytica*(Diamantstein et al., 1981), *N. fowleri*(Ferrante and Smyth, 1970) 등의 연구에 이용되어 왔다.

본 실험에서 대조군의 자극지수는 실험 1주부터 증가하여 실험 10주에는 처음의 수준으로 되었는데 이러한 변화는 Hay and Dutton(1985)의 실험성적에서도 볼 수 있듯이 검사상의 오차 범위에 속하는 변화로 볼 수 있다. Con. A 처리시 Fukaya주 및 ME49주 감염군의 자극지수는 대조군보다 유의하게 감소하였으나, Beverley주 감염군은 감염 6, 7주에 유의한 차이를 보이지 않았는데 이는 Beverley주가 다른 2개주와 비교시 감염기간에 따라 세포매개성 면역반응에 약간의 차이가 있음을 보여주고 있으나 전 실험기간을 상호 비교시에는 유의성은 없었다. 이와같은 성적들은 *Toxoplasma* 감염 마우스를 비특이 T-림프구 분열유발인자 Con. A나 phytohemagglutinin(PHA)으로 처리시 림프구의 기능이 현저하게 저하되었음을 보여준 Strickland et al.(1975)의 실험 성적, 만성 감염의 경우보다는 급성기에 있어 더욱 현저한 저하현상이 나타남을 보고했던 Luft et al.(1984)의 실험 성적 그리고 본충에 감염된 실험동물에 있어서는 모두 면역 억제현상이 발현되었다는 McLeod et al.(1985), Anderson et al.(1979) 등의 성적들과 일치하거나 유사하였다. 또한 각 주별 감염 마우스의 아세포화 반응을 상호 비교시 LPS 및 *Toxoplasma lysate* 처리시에는 유의한 차이를 보이지 않았으나 Con. A 처리시 Beverley주의 자극지수가 감염 6, 7주에 일시적으로 증가하였으나 전실험기간을 상호 비교시 다른 2개주와 유의한 차이는 없었다. 본 실험에서는 3개주의 아세포화 반응이 뚜렷한 차이를 보이지 않아 Chan et al.(1986)의 성적과 차이를 보였는데 이는 본 실험에서는 3개주 모두를 병원성이 유사한 약독주를 사용하였으나 Chan et al.(1986)은 강독주인 RH주와 약독주인 C56주를 사용하였기 때문에 반응에 있어 큰 차이를 보인 것으로 사료된다.

이와같이 본충 감염시 분열유발인자나 항원에 대한 림프구의 기능이 저하되는 기전은 비장세포에 존재하고 있는 T-림프구가 분열유발인자나 항원에 반응하지 않는 세포로 회귀되었거나, T-림프구가 이미 말초혈액으로 이동되어 아세포로 변화되어 더 이상 분열유발인자에 반응하지 않거나, T-림프구의 기능을 억제하는

비특이적 억제세포 또는 활성화된 대식세포의 작용 때문이라고 하였다(Hersh et al., 1974; Strickland et al., 1975). 또한 Con. A에 의한 T-림프구의 아세포화는 interleukin-2(IL-2)에 의존적으로 일어나며 이러한 IL-2는 대식세포의 상호작용으로 생성되는데, 대식세포가 용해성 인자를 분비함으로써 IL-2의 생성이 억제되어 림프구의 기능이 저하된다고도 보고하였다(Kramer and Koszinowski, 1982; Suzuki and Kobayashi, 1984).

한편 본충 감염 가토의 말초혈액, 림프절 및 비장세포에 toxoplasmin 또는 *Toxoplasma*충체를 처리한 실험에서 면역반응의 저하현상을 볼 수 없었다는 Hultd (1967)의 보고, 급성 감염자를 *Toxoplasma* 항원으로 처리시 감염 1주후부터 대부분의 말초 혈액내에서는 림프구의 증식반응이 유발되었으나 억제된 예는 급성 감염자의 30%에 불과하였다는 Yano et al.(1987)의 보고 등은 본충 감염에 있어 림프구 아세포화 반응의 다른 측면을 보여주고 있다.

체액성 면역반응은 B-림프구가 항원 자극을 받아 형질세포로 분화됨으로써 항체를 생산하여 면역에 관여한다. 본충 감염에 있어서의 체액성 면역반응은 초기에는 별다른 방어적 역할을 하지 못하지만 만성기에 있어서는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 그 기전은 체액성 면역항체와 대식세포의 결합으로 탐식작용이 촉진되어(opsonizing activity) 대식세포가 tachyzoite를 탐식, 사멸시킴으로써 방어적 효과를 나타낸다고 하였다(Hauser and Remington, 1981).

본 실험에 있어 3개주 각각에 감염된 마우스의 혈청내 IgG 항체가는 감염후 2주부터 7주까지 계속 증가되었으며 그후에는 거의 유사하게 지속되었으나, 3개주 상호간에는 유의한 차이가 없었다. IgM 항체가는 1주부터 4주까지는 3개주 모두에서 현저히 높게 나타났으나 그후에는 주별로 약간의 차이만 보이면서 낮아졌으며 9, 10주에는 상호 유사하였다. 이와 같은 성적들은 IgG 및 IgM 항체가 감염후 2주를 전후하여 검출되기 시작하여 IgG 항체가는 8주에, 그리고 IgM 항체가는 3주에 최고에 도달했다는 Yano et al.(1987)의 보고, 높은 IgG 항체가를 수반한 높은 IgM 항체가를 보이는 경우는 본충감염의 초기를 시사한다는 Brown and Neva(1983)의 기술내용과 일치하였다. 또한 Naot et al., (1982)에 의하면 본충 감염의 초기에는 IgM 항체가 생성되어 1년 정도 유지되며 IgG 항체는 이것보다 약간 늦게 생성되어 일생동안 유지된다고 하였다.

이상의 성적으로 보아 *T. gondii*의 Beverley주, Fukaya주 및 ME49주를 각각 감염시킨 마우스에 있어 감염 초기에는 아세포화 반응이 억제되며, IgM 항체가는 감염 초기에 증가한 후 감소하였고 IgG 항체가는 초기부터 높은 수준으로 장기간 지속됨을 알 수 있었다. 그러나 *T. gondii*의 3개주를 각각 감염시킨 마우스의 아세포화 반응 및 혈청내 항체가를 상호 비교시

기간별 약간의 변화는 있었으나 전 실험기간을 비교시 유의한 차이는 없었다.

참 고 문 헌

서병설(1975) 최근 밝혀진 *Toxoplasma gondii*의 생물학. 농림수산과학회지, 3:204-209.

홍창의(1974) *Toxoplasma gondii*의 가토감염에 관한 실험적 연구. 연세의대논문집, 7:279-289.

Anderson, S.E., Jr., Krahenbuhl, J.L. and Remington, J.S.(1979) Longitudinal studies of lymphocyte response to *Toxoplasma* antigen in humans infected with *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 2:293-297.

Barbier, D., Goyot, P. and Dedet, J.P.(1985) *Leishmania braziliensis* guyanensis dermal leishmaniasis; cell-mediated immunity related to clinical features. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 79:47-50.

Barriga, O.O.(1981) The Immunology of Parasitic Infections. pp.72-84. University Park Press, Baltimore.

Bloomfield, M.M. and Remington, J.J.(1970) Comparison of three strains of *Toxoplasma gondii* by polyacrylamide-gel electrophoresis. *Trop. Geogr. Med.*, 22:367.

Bradford, M.M.(1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.

Brown, H.W. and Neva, F.A.(1983) Basic Clinical Parasitology (5th ed.), pp. 47-51. Appleton-Century-Crofts, Norwalk.

Chan, J., Siegel, J.P. and Luft, B.J.(1986) Demonstration of T-cell dysfunction during acute *Toxoplasma* infection. *Cell. Immunol.*, 98:422-433.

Dean, S.C. and Kuhn, R.E.(1980) *Trypanosoma cruzi*-induced suppressor substance. I. Cellular involvement and partial characterization. *J. Immunol.*, 124:2122-2129.

Diamanstein, T., Klos, M., Gold, D. and Hahan, H.(1981) Interaction between *Entamoeba histolytica* and immune system. *J. Immunol.*, 126:2084-2086.

Ferrante, A. and Symth, C.(1984) Mitogenicity of *Naegleria fowleri* extracts for murine T lymphocytes. *Immunology*, 51:461-468.

Handman, E., Goding, J.W. and Remington, J.S.(1980) Detection and characterization of membrane antigens of *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.*, 124:2578-2583.

Hauser, W.E., Jr. and Remington, J.S.(1981) Effect

of monoclonal antibodies on phagocytosis and killing of *Toxoplasma gondii* by normal macrophages. *Infect. Immun.*, 32:637-640.

Hay, J. and Dutton, G.N.(1985) Blastogenic responses of splenic lymphocytes to toxoplasmal and retinal antigens and T- and B-cell mitogens in mice with congenital ocular toxoplasmosis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 79:113-115.

Hersh, E.M., McCredie, K.B. and Freideich, E.J.(1974) Inhibition of *in vitro* lymphocyte blastogenesis by inhibitor produced by cultured human lymphoblasts. *Clin. Exp. Immunol.*, 17:463-468.

Huldt, G.(1967) *In vitro* studies of some immunological phenomena in experimental rabbit toxoplasmosis. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 70:129-146.

Jacobs, L. and Melton, M.(1955) Modifications in virulence of a strain of *Toxoplasma gondii* by passage in mice. *J. Parasitol.*, 41(suppl.):21.

Johnson, A.M., McDonald, P.J. and Neoh, S.H.(1983) Monoclonal antibodies to *Toxoplasma* cell membrane surface antigens protect mice from toxoplasmosis. *J. Protozool.*, 30:351-356.

Kasper, L.H. and Ware, P.L.(1985) Recognition and characterization of stage specific oocyst/sporozoite antigens of *Toxoplasma gondii* by human antisera. *J. Clin. Invest.*, 75:1570-1577.

Krahenbuhl, J.L., Ruskin, J. and Remington, J.S.(1972) The use of killed vaccines in immunization against an intracellular parasite; *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.*, 198:425-431.

Kramer, M. and Koszinowski, U.(1982) T cell-specific suppressor factors with regulatory influence on interleukin 2 production and function. *J. Immunol.*, 128:784-790.

Luft, B.J., Kansas, G., Engleman, E.G. and Remington, J.S.(1984) Functional and quantitative alternations in T lymphocyte subpopulations in acute toxoplasmosis. *J. Infect. Dis.*, 150:761-767.

Luft, B.J.(1989) The parasitic infections in the compromised host. pp.198-202. Marcel Dekker, New York.

Matsubayashi, H. and Akao, S.(1963) Morphological studies on the development of the *Toxoplasma* cyst. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21:321-333.

McLeod, R. and Estes, R.G.(1985) Role of lymphocyte blastogenesis to *Toxoplasma gondii* antigens in containment of chronic, latent *Toxoplasma gondii* infection in humans. *Clin. Exp. Immunol.*, 62:24-30.

Michel, J.C., Lagrange, P.H. and Hurtrel, B.(1978)

- Modulation by malaria infection of the induction of T lymphocyte-dependent delayed type hypersensitivity and antibody formation to sheep erythrocytes in mice. *Parasit. Immunol.*, 1:267-275.
- Naot, Y., Guptill, D.R. and Remington, J.S. (1982) Duration of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* after acute acquired toxoplasmosis. *J. Infect. Dis.*, 145:770.
- Nicolle, M.C. and Manceaux, L. (1908) Sur une infection a corp sde Leishman (ou organisms voisins) du gondi. *Compt. Rend. Sci.*, 147:763-765.
- Nowell, P.C. (1960) Phytohemagglutinin; an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res.*, 20:462-466.
- Rose, N.R. and Friedman, H. (1982) Manual of clinical immunology (2nd ed.). pp. 198-326. American Society for Microbiology, Washington D.C.
- Schwartaman, J.D. (1986) Inhibition of penetration enhancing factor of *Toxoplasma gondii* by monoclonal antibodies for rhoptries. *Infect. Immun.*, 51:760-764.
- Strickland, G.T., Ahmed, A. and Sell, K.W. (1975) *Toxoplasma* infected mouse spleen cells to T- and B-cell mitogens. *Clin. Exp. Immunol.*, 22:167-176.
- Suzuki, M. and Tsunematsu, Y. (1971) Studies on the accessory factor for *Toxoplasma* dye test: Essential role of complement. *J. Parasitol.*, 57:924-925.
- Suzuki, Y. and Kobayashi, A. (1984) Macrophage-mediated suppression of immune response in *Toxoplasma* infected mice. *Cell. Immunol.*, 85:417-427.
- Voller, A., Bidwell, D.E. and Bartlett, A. (1976) Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Theory and practice. *Bull. WHO*, 53:55-66.
- Ware, P.L. and Kasper, L.H. (1987) Strain-specific antigens of *Toxoplasma gondii*. *Infect. Immun.*, 55:778-783.
- Yano, A., Aosai, F., Yamashita, K., Sugane, K. and Hayashi, S. (1987) Immune response to *Toxoplasma gondii*-alternation of antigen specificity of peripheral blood leukocyte proliferative responses in acute toxoplasmosis. *Microbiol. Immunol.*, 31:345-355.

=Abstract=

Changes in blastogenic responses and antibody titers of mice infected with *Toxoplasma gondii*

Dae-Whan Shin, Young-Ha Lee, Young-Eun Na and Du-Seong Kwon

*Department of Parasitology, College of Medicine,
Chungnam National University, Daejeon 301-131, Korea*

This study was performed to observe the cell-mediated and humoral immune responses in mice which were infected with Beverley, Fukaya and ME49 strain of *Toxoplasma gondii*, respectively. The blastogenic responses of splenocytes using [³H]-thymidine and serum antibody titers were measured weekly up to 10 weeks after infection. The blastogenic responses of splenocytes treated with concanavalin A and *Toxoplasma* lysate were significantly declined in the 3 strain groups as compared with the non-infected group (p<0.05), however lipopolysaccharide-treated blastogenic responses were not significantly different between infected and non-infected groups. The serum IgG antibody titers in the three infected groups increased from 2 weeks after infection, and the serum IgM antibody titers increased until 4 weeks after infection. No significant differences were revealed in blastogenic responses and serum antibody titers among the 3 groups. The present study suggested that cell-mediated immune responses were involved in *T. gondii* infected mice and blastogenic responses of T lymphocytes were inhibited in acute *T. gondii* infection.