

비타민 E 투여가 마우스의 체액성 및 세포성 면역반응에 미치는 영향

—비타민 E 결핍환자의 간호중재 개발을 위한 동물실험—

김 금 재*

I. 서 론

1. 연구의 필요성

비타민 E는 비타민 A 및 C 그리고 베타카로틴과 더불어 유리라디칼 손상으로부터 인체를 보호해주는 항산화제(antioxidant)로 잘 알려져있다(박 등, 1981; Bieri 등, 1983; Watson 등, 1986; Chi 등, 1992; Xu 등, 1992), 비타민 E는 당뇨병(Hill 등, 1983), 자가면역질환(Ayres 등, 1987), 노화방지(Chavance 등, 1984), 유전적질환(Boxer 등, 1979) 등의 치료에도 사용되고 있고, 최근에는 비타민 A 및 C와 더불어 암발생 예방(Watson 등, 1986; Smigel, 1992), 스트레스 예방(Chavance 등, 1984) 그리고 노화예방과 순환계질환의 예방과 치료(Bieri 등, 1983) 등 광범위하게 임상적으로 사용되고 있다.

비타민 E가 면역반응에 미치는 영향에 관한 보고를 살펴보면, Tengerdy 등(1973)은 비타민 E에 의해 면역적혈구(SRBC) 또는 파상풍 변독소(toxoid)에 대한 체액성 면역반응을 항진시킨다고 보고하였고, Campbell 등(1974)은 비타민 E가 마우스 비장세포의 시험관내 면역반응을 증가시킨다고 보고하였다. 또한 Tanaka 등(1979)은 비타민 E가 협조 T 세포(T_H)의 활성을 항진시킨다고 보고하였고, Bendich 등(1984)은 비타민 E가 마이토젠(mitogen)에 대한 기니피크의 면역

반응을 항진시킨다고 보고하였으며, Bendich 등(1986)은 또한 비타민 E가 랫트에 있어서 최적면역반응을 일으키는데 필요한 중요한 영양소라고 보고하였다. 최근에 Chi 등(1992)은 비타민 E가 poke weed mitogen (PWM)에 대한 마우스 비장세포의 증식반응은 항진시켰지만, phytohemagglutinin (PHA), concanavalin A (Con A) 또는 세균의 lipopoly-saccharide (LPS)에 대한 증식반응에는 유의한 증가를 일으키지 않았다고 보고하였다. 뿐만아니라, 비타민 E가 폐렴구균감염에 대한 마우스의 저항을 증가시킨다는 보고(Heinzerling 등, 1974)가 있고, 또한 비타민 E가 알러지 발생에 중요한 역할을 하는 여러 가지 중개물질(mediator) 즉 류코트라이엔(leukotriens)과 monohydro-eicosetraenoic acids (HETE)를 생산하는 lipooxy-generation을 촉진한다는 보고(Goetzl, 1980) 등이 있다. 그러나 비타민 E가 지연성과민반응(delayed type hypersensitivity, DTH반응)과 접촉성과민반응(contact hypersensitivity) 그리고 알러지(allergy) 특히 능동성 전신성 아나필락시스(active systemic anaphylaxis)에 관한 연구는 찾아볼 수 없었고, 특히 후천성면역 결핍증(AIDS)환자 등 면역반응이 억제된 숙주(immunocompromised host)에 빈번히 감염을 일으키는 세포성 면역반응과 밀접한 관계가 있는 진균인(*Cryptococcus neoformans*감염)에 미치는 비타민 E의 영향에 관한 연구는 찾아볼 수 없었다.

* 전북대학교 의과대학 간호학과

비타민 E 에 관한 면역학적 견지에서 뿐만 아니라 간 호학 및 영양학 견지에서도 앞서 기술한 바와 같이.비타 민 E 의 태아에 미치는 영향, 성인에서의 당뇨병, 자가 면역질환, 노화방지 및 암발생 예방, 스트레스 예방이나 순환계질환의 예방에 대해서는 이미 산전 건강관리, 성 인 건강관리 및 영양관리에 대한 간호관리를 지역사회 임산부관리나 모자보건, 성인간호에 교육하고 있는 실 정이다.

그러나 비타민 E 가 면역반응 특히 지연성과민반응과 접촉성 과민반응, 그리고 능동성 전신성 아나필락시스 에 관한 연구에 찾아볼 수 없었고, 뿐만 아니라 후천성 면역결핍증환자 등 면역반응이 억제된 숙주에 빈번히 감염을 일으키며 특히 세포성 면역반응과 밀접한 관계 가 있는 진균인 *C. neoformans*에 대한 연구는 찾아볼 수 없었기 때문에 이들에 관한 연구는 예방접종시 비타민 복용환자에 나타날 수 있는 면역학적 효과 그리고 면역 반응이 억제된 환자의 간호에 있어 진균 등에 의한 기회 감염(opportunistic infection)과 관련하여 간호학적으로도 중요하고, 또한 알러지 환자 간호 및 아나필락시스 성 속(shock) 예방관리면에 있어서도 비타민 E 투여와 관련하여 간호학적으로 매우 필요하리라고 사료되었고, 또한 알러지 및 진균감염증에 대한 비타민 E 의 영양 학적 효과에 대한 설명에 일조가될 수 있으리라고 사료 되어 일차적인 기초연구(basic research)로서 본 연구를 시도하였다.

본 연구에서는 마우스에 있어서 비타민 E 가 SRBC 에 대한 혈청항체반응과 지연성 과민반응, dinitrofluorobenzene(DNFB)에 대한 접촉성 과민반응 그리고 수 종의 마이토젠(PHA, Con A, PWM)에 대한 마우스 비 장세포의 증식반응 등에 미치는 영향을 실험하였으며, 아울러 비타민 E 가 *C. neoformans* 의 실험적 감염에 대한 마우스의 저항과 난알부민(OVA)으로 유도한 능동 성 전신성 아나필락시스에 대한 영향에 관하여 실험하 였다.

2. 연구의 목적

본 연구의 목적은 비타민 E 투여가 1)면양적혈구 (SRBC)에 대한 혈구응집항체반응에 미치는 영향, 2) DTH반응과 접촉성과민반응 등 세포성 면역반응에 미 치는 영향, 3) 마우스 비장세포의 T 및 B세포 마이토젠 (mitogen)에 대한 증식반응에 미치는 영향, 4) 마우스 의 여러 장기로부터 하나의 진균인 *Cryptococcus*

*neoformans*의 검출 즉 미생물감염에 대한 저항에 미치는 영향, 그리고 5) 단백질 항원으로 능동성 전신성 아나필 락시스 유발에 미치는 영향을 파악하고자 하는데 있다.

3. 용어의 정의

지연성과민반응(delayed-type hypersensitivity, DTH 반응) : 감각된 T세포에 의해서 전달되는 제 4형 의 알러지에 관여하는 지연성 과민반응으로 일반적으로 병변은 T림프구와 대식세포의 공동작용으로 생기며, 이 반응은 홍반경결이 특징이며 수시간 후에 나타나고 24-48 시간에 최대로 되고 그 후 가라앉는다.

Arthus 반응 : 항원으로 면역된 동물의 피내에 면역 할때 사용한 특이항원을 주사하였을때 항원이 항체와 결합하여 면역복합체가 만들어져 보체계를 활성화하여 면역복합체 주변에 부종, 발적이 발생하고, 혈류장애에 때 문에 피사를 일으킨 때도 있다. 이 반응을 Arthus반응이 라고 하며 이는 즉시형 과민반응 보다는 늦게 일어나고 세포매개성 반응보다는 빠르게 일어난다.

접촉성 과민반응(contact hypersensitivity) : 항원 이나 hapten 이 될 수 있는 화학물질과 접촉했을때 야기 되는 피부반응으로 일종의 세포매개성 면역반응을 말한 다.

지용성 비타민 : 비타민은 두가지 그룹, 즉 수용성 비 타민과 지용성 비타민으로 대별되며 수용성 비타민에는 타아민, 리보플라빈, 비타민 C 등이 있으며 이들은 대부 분 보조 효소로서 작용한다. 지용성 비타민은 지방에 용 해되는 것으로 비타민 A,D,E 및 K 등이 있으며 이들은 식사지방과 같이 체내로 흡수되어 몸에 저장된다. 지방 의 섭취가 부족하면 지용성 비타민의 흡수도 방해받 는 다.

아구전환(blast transformation) : 림프구를 마이토 젠이나 미리면역되어있는 특이항원의 존재하에서 배양 하면 림프구는 커지고 세포질은 확산되고, 이때 DNA합 성이 완성화되고 세포가 커져서 이른바 아세포(아구)로 변하는 현상을 말한다. 이는 현미경하에서 그 형태를 관 찰하여 평가할 수 있지만 최근에는 방사선 동위원소 (isotope)를 이용하여 측정한다. 즉 림프구를 분리하여 시험관내에서 배양하면서 특이항원 또는 마이토젠으로 자극하고, 세포배양이 끝나기전(대개 16시간전)에 방 사선 동위원소(³H 타이미딘)를 첨가하며, 유리섬유 여 과디스크에 세포를 수확하고 디스크를 liquid scintillation counter에 넣어 방사능을 측정한다. 높은 수치가

나오는 경우는 림프구가 아구전환 되었으며 항원 또는 마이토젠에 반응함을 뜻한다. 이 방법은 시험관내에서 세포성 면역반응을 측정하는 좋은 방법이다.

마이토젠(mitogen) : 림프구를 비특이적으로 활성화하여 DNA 합성과 세포증식을 일으키는 물질, 즉 세포 분열 촉진인자이다. 대표적인 마이토젠으로는 식물유래의 lectin, 예를 들면 PHA, Con A, PWM 혹은 세균유래의 LPS, *Staphylococcus aureus* Cowan 1(SAC) 및 PPD 등이 있다.

아나필락시스(anaphylaxis)

a) 이론적 정의 : 항원에 의하여 감각된 개체에 동일한 항원을 재차 투여 하였을때 생기는 즉시형 과민반응(immediate hypersensitivity)을 말하며 이 과민반응은 알러젠(allergen)이 침입문호(portal of entry)를 통하여 체내로 들어오면 B세포가 자극되어 형질세포(plasma cell)로 되고, 이 형질세포가 IgE 항체를 생산하며, 이 생산된 IgE가 비반세포(mast cell)에 결합하고, 그 후 다시 알러젠이 체내에 들어오면 비반세포에 결합된 2분자의 IgE 항체와 결합하여 세포질에 시그널(signal)이 전달되어 탈과립(degranulation)이 일어나서 히스타민을 비롯한 여러가지 약리학적 활성물질이 유리되어 발생한다. 그 증상은 경미한 것인 경우도 있고 심한 경우에는 쇼크(shock) 아나필락시스쇼크를 일으켜 사인이되는 경우도 있다. 전신적으로 나타나는 아나필락시스를 전신성 아나필락시스(systemic anaphylaxis)라고 하고, 감각된 동물로부터 정상동물에 동종친화성 항체 또는 IgE항체를 주사한 다음 이항체와 반응하는 특이항원(specific antigen)을 주사하여 나타난 아나필락시스를 수동성 전신성 아나필락시스(passive systemic anaphylaxis)라고 한다. 이와는 달리 항원으로 동물을 감각하고 그 감각동물에 감각했던 특이항원을 주사하였을때 나타난 아나필락시스를 능동성 전신성 아나필락시스(active systemic anaphylaxis)라고 한다.

b) 조작적 정의 ; 아주반트와 OVA로 감각한 후 18일에 OVA 를 정맥주사하여 아나필락시스를 유발시키고 그 발생정도를 Haffner(1929)가 처음 기술한 스코어 방법을 저자가 다소 변경하여 평가하였다.

*C.neoformans*에 대한 저항성 검사

a) 이론적 정의 ; 마우스에 진균을 감염시키고 비타민 투여마우스의 사망율과 대조마우스의 사망율을 비교하여 생존마우스가 많으면 저항성을 나타낸다고 말할 수 있다.

b) 조작적 정의 ; 마우스에 진균을 감염시킨 다음 마우

스로부터 폐장, 뇌, 간장, 비장 및 신장을 적출하여 각 장기내의 생종균수(CFU)를 측정하여, 생존균수가 상대적으로 소수이면 저항성이 있다고 판정하였다.

4. 연구의 제한점

- 1) 실험동물로 마우스만을 사용하였고,
- 2) 마우스 혈장내 비타민 E 농도를 측정하지 않았으며,
- 3) 아나필락시스 실험에 있어서도 여러 가지 cytokine과 알러지 증개물질 검사를 하지 않았다는 점을 들 수 있겠다.

5. 문헌 고찰

Tengendy 등(1973)은 비타민 E를 사료에 첨가하면 SRBC 또는 파상풍 변독소(toxoid)에 대한 마우스의 체액성 면역반응이 증가되고, 비타민 E 결핍 마우스의 SRBC에 대한 IgG반응은 억제되고 비타민 E를 사료에 첨가해주면 그 반응은 회복되었다고 보고하였다. Campbell 등(1974)은 정상 마우스 비장세포가 시험관내에서 SRBC에 대한 항체를 생산할려면 부착성 세포(adherent cell)와 비부착성 세포(nonadherent cell)가 필요하느바 배양시험관내에 alpha-tocopherol 를 첨가하면 부착성 세포가 없는 경우에도 항체를 생산하였고, 뿐만아니라 부착성 및 비부착성 세포존재하에서 시험관내 면역반응을 항진시켰다고 보고하였다. Tanaka 등(1979)도 비타민 투여는 마우스의 hamster적혈구 및 hapten-carrier(TNP-HRBC)에 대한 체액성 면역반응을 항진시키고, T림프구 협조작용을 항진시킨다고 보고하였다.

Bendich 등(1983)은 spontaneously hypertensive rat(SHR)의 비장세포는 T 및 B세포 마이토젠 즉 PHA, ConA 및 LPS에 대한 증식반응이 정상랫트에 비하여 저하되어 있었을뿐아니라 비장세포의 비타민 E 농도도 저하되었으나 사료에 DL- α -tocopheryl acetate를 첨가하여 사육하면 그 반응이 정상으로 회복되었고, 흉선세포의 rosette형성도 증가되었다고 보고하였다. Bendich 등(1984)은 기니픽에 있어서도 비타민 E 투여가 림프구의 PHA, ConA 및 LPS에 대한 증식반응이 증가함을 보고하였으며 또한 Bendich 등(1986)은 랫트에 있어서도 비타민 E 투여에 의해서 마이토젠에 대한 림프구 증식반응이 증가함을 보고하였다.

최근 Chi 등(1992)은 C57/BL 마우스를 대상으로한 실험에서 PHA 와 ConA에 대한 증식반응에는 유의한 차이를 보이지 않으나 PWM에 대한 증식반응은 증가시키고 LPS에 대한 증식반응은 오히려 감소시켰으며, 또한 일방성 혼합림프구반응(one-way mixed lymphocyte reaction)도 감소시켰다고 보고하였다.

Heinzerling 등(1974a 및 1974b)은 비타민 E 투여는 마우스의 폐렴구균감염 및 대장균에 대한 저항력을 증가시켰다고 보고하였다. Boxer 등(1979 및 1986)은 비타민 E는 다핵형백혈구(PMN)의 살균력과 화학주성(chemotaxis)을 증가시킨다고 보고하였다. Likoff 등(1981)은 비타민 E가 면역에 관여하는 기관(immunopoietic organs)의 프로스타글란딘(PG)의 농도를 억제하고 대장균에 감염된 닭의 사망율을 감소시킨다고 보고하였다.

비타민 E가 프로스타글란딘, thromboxane 및 leukotriene 합성을 조절하여 면역조절(immunoregulation)에 중요한 역할을 한다는 것은 잘 알려져있다(Carpenter, 1986; Afzal 등, 1986; Goetzl, 1980; Chan 등, 1980), 특히 Lawrence 등(1985)은 비타민 E가 아라키돈산(arachidonic acid)의 lipoxigenase 경로를 억제하여 면역반응을 항진시킨다고 보고하였다. Goetzl(1980)은 저농도의 비타민 E는 아라키돈산의 lipoxigenation을 항진시키나 고농도의 비타민 E는 아라키돈산의 lipoxigenation에 억제작용을 나타낸다고 보고하였다.

Steiner 등(1976)은 비타민 E가 사람의 혈소판응집(platelet aggregation)을 억제한다고 보고하였다. 아나필락시스를 포함한 알러지 발생에는 비반세포 및 호염구의 존재가 불가결한 세포로 알려졌다지만 Ha 등(1986 및 1987) 및 하 등(1992a)은 비반세포 결핍 마우스에서 정상적인 체액성 및 세포성 면역반응 잠재력을 증명하고 더욱이 능동성 전신성 아나필락시스를 유발시키고, 알러지 및 아나필락시스 발생에는 비반세포 및 호염구 이외의 세포 즉 혈소판이 관여할 것이라는 보고를 한 바 있다. 또한 하 등(1992a)은 혈소판 활성화인자(platelet activation factor, FAF)가 전신성 아나필락시스를 일으킴을 보고하였으며 또한 하 등(1990b)은 PAF 수용체 길항제 BN50739가 PAF로 일으킨 아나필락시스는 물론 단백질인 chicken-gamma globulin 또는 ovalbumin으로 유도한 치명적 능동성 전신성 아나필락시스로부터 마우스를 보호하였다고 보고하였다.

Xu 등(1992)은 비타민 A 생성물인 베타카로틴(β

-carotene)은 여러 가지 종양질환의 화학 예방제(chemopreventive agents)로서 임상적으로도 가장 널리 시도되고 있는 물질인바 이 베타카로틴을 장기간 복용하면 혈장내 비타민 E의 농도를 감소시키므로 이러한 해로운 영양소간의 상호관계(nutrient interaction)를 광범위하게 연구할 필요가 있다고 주장하였다. Smigel(1992)는 비타민 E는 베타카로틴과 마찬가지로 항산화제(antioxidant)이며 비타민 E는 항암작용이 있으나 multivitamins에 들어있는 비타민 E의 양(대개 30 I.U.)은 보호효과를 나타내는데는 불충분하다고 보고하였다.

II. 연구가설

본 연구목적은 성공적으로 이룩하기 위하여 다음과 같은 몇가지 가설을 설정하였다.

제 1 가설: 비타민 E가 SRBC에 대한 항체반응과 지연성과민 및 접촉성 과민반응의 조절에 영향을 미칠 것이며 림프구의 마이트젠에 대한 증식반응에도 영향을 미칠 것이다.

제 2 가설: 비타민 E 투여는 마우스의 여러 장기 즉 뇌, 폐, 간장, 비장 그리고 신장에 있어서의 *C. neoformans* 검출을 감소시킬 것이다.

제 3 가설: 비타민 E가 아라키돈산의 lipoxigenation을 억제 한다는 Goetzl(1980)의 보고를 참작하면 비타민 E 투여가 능동성 전신성 아나필락시스의 유발을 억제할 것이다. 제 4 가설: 체액성 면역반응과 세포성 면역반응은 가끔 역상관관계(inverse relationship)를 나타낼 때가 있으므로 비타민 E 투여에 의해서 다르게 나타날 수도 있을 것이다.

III. 연구방법

1. 실험재료

1) 실험동물: 생후 7-8주된 ICR마우스(체중 약 21g)를 암수 구별없이 주로 사용하였으며, 실험군 및 대조군은 동성(sex-matched)의 동물을 사용하였다. 이들 동물엔 수돗물과 펠렛사료(제일사료주식회사, 대전)를 공급하고 가능한한 스트레스를 받지 않도록 조용한 분위기에서 포리카보네이트 케이지에 5마리씩 넣어 사육하였다.

2) 배지: 우태아 혈청(FCS, GIBCO Lab., Grand

Island)이 5% 또는 10% 들어있는 RPMI 1640(GIBCO Lab., Grand Island, NY)를 사용하였다.

3) 약제 : T 및 B 림프구 증식반응 검사에 사용한 mitogen에는 PHA-P(Burrough Wellcome, Triangle Park, MC), Con A(Type IV-S, Sigma Chem. Co., St. Louis, MO) 및 pokeweed mitogen(PWMm Flow Laboratories, Sydeny) 등이 있다. 비타민 E는 DL- α -Tocopherol acetate (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)를 사용하였다. 능동성 전신경 아니필락시스 실험에는 ovalbumin(OVA, 5 x crystallised, Miles Laboratories, Inc., Kankakee, Ill.)을 항원으로 사용하였다.

4) 항원 : 흉선의존성항원(thymus-dependent antigen)으로는 면역적혈구(SRBC)를 사용하였다. SRBC는 전북대학교 수의학과에서 사육하고 있는 면양의 정맥으로부터 채혈한 후 동량의 알시버씨액(pH 6.1)을 가하여 4-6 °C 에 보관하면서 4주 이내에 사용하였다. 접촉성 과민반응 분석을 위한 항원으로는 2, 4-dinitro-fluorobenzene(DNFB, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)을 사용하였다.

5) 공시균주 및 배양 : 미국 Oklahoma대학교 의학대학 미생물학 및 면역학교실의 J.W.Murphy 교수로부터 분양받은 *Cryptococcus neoformans* 184 (혈청형 A)주를 공시하였다. 이 균주는 Sabouraud dextrose agar slant (Difco Laboratories, Detroit, Mich)배지에 계대배양 보관하면서, 실험에 공시하기 수일 전에 Sabouraud dextrose broth에 접종하여 사용하였다.

2. 방 법

1) 비타민 E 투여 : 마우스의 DTH 및 항체반응실험에 있어서는 각 실험군 및 대조군마다 10 마리씩 사용하였는데 이들은 DL- α -Tocopherol acetate 0.3ml (300mg)를 SRBC로 면역하기전 또는 DNFB로 마우스를 감각하기전 10일간 계속 근육주사하여 투여하고 전 실험기간 매일 주사하였다. 마이토젠(mitogen)에 대한 증식반응실험에 있어서는 각 실험군마다 5마리씩 실험하였는데 같은 실험을 3번 반복하였으며, 이들에게는 비타민 E 를 식도삽관(esophageal intubation)하여 20일간 투여하였다. 대조마우스는 옥수수 기름(corn oil)을 비타민 E 대신 동일기간 동량같은 경로로 투여하였다.

2) SRBC에 대한 적혈구 응집소가 : 1×10^7 SRBC를 복

강주사하여 면역한 후 7일에 안와후정맥동으로부터 파스퇴르피펫을 이용하여 채혈하고 혈청을 분리하여 김(1988 및 1991)이 기술한 방법에 준하여 적혈구 응집소가를 측정하였다. 총 항체가를 측정하기 위해서는 microtitration tray(Chemical Co., Inc., New Haven, CT)의 각혈에 56 °C 에서 30분간 비동화시킨 혈청에 동량의 0.5% SRBC 부유액을 혼합하여 37 °C 에서 1시간 방치후 응집을 일으킨 최고 희석도를 항체가로 판독하였다.

3) SRBC 면역조치와 SRBC에 대한 Arthus 및 DTH 반응검사 : 알시버씨액에 보관중인 SRBC를 멸균생리적 식염수로 3회 세척 후 Ha 등(1986) 및 하 등(1991)이 기술한 방법을 다소 변경하여 실시하였다. 항원은 10% SRBC 부유액을 만들어 그 0.1ml를 마우스 복강에 주사하여 면역조치하였다. 기억세포실험에 있어서는 제 1차 면역조치후 15일에 같은 양의 SRBC로 2차 면역조치하였다. 그 후 Arthus 및 DTH 반응은 SRBC에 대한 족척종창반응(footpad swelling reaction)으로 측정하였는데, 그 측정은 하등(1991)이 기술한 방법을 다소 수정하여 실시하였다. 간기하면, 실험목적에 따라 1×10^7 세포가 포함된 SRBC부유액 0.03ml를 마우스의 후족척피하에 야기조치한 다음 Mitutoyo engineer's micrometer 를 사용하여 야기조치직전(T_0), 3시간(T_3), 24시간(T_{24}) 및 48시간(T_{48})후에 각 각 족척종창정도를 측정하였으며, 그 종창증가의 정도는 다음 공식에 따라 %로 표시하였다.

$$\% \text{ Increase} = \{(T_3, T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0) / T_0\} \times 100$$

4) 접촉성 과민반응 : 접촉성과민반응의 유발을 위한 감각원으로 DNFB를 사용하여 김(1992)이 기술한 방법에 따라 DNFB에 대한 접촉성 과민반응을 실험하였다. 간기하면, DNFB를 아세톤 : 올리브유(v/v, 4 : 1)혼합액에 용해한 0.5% DNFB용액 10ul씩 실험제 1일과 2일에 마우스의 복부피부에 도말하면 감각하고, 실험 제 5일에 0.2% DNFB 용액 10ul씩 귀 내외면에 각 각 도말하여 야기조치하였다. 귀 종창증가의 정도는 Mitutoyo engineer's micrometer를 사용하여 야기조치 직전(T_0), 24시간(T_{24}) 및 48시간(T_{48})후에 귀의 두께를 측정하였으며, 그 종창증가의 정도는 다음 공식에 따라 %로 표시하였다.

$$\% \text{ Increase} = \{(T_{24}, \text{ or } T_{48} - T_0) / T_0\} \times 100$$

5) 세포부유액의 준비 : 마우스를 희생시키고 무균적으로 비장을 적출하여 한냉 Hanks' balanced salt solution(HBSS, GIBCO Lab, Grand, Island, NY)에서

조심스럽게 teasing한 다음 2-3분 정치시켜 가라앉은 세포괴를 제거하고 HBSS로 3회 원심세척하여 10% FCS가 들어있는 RPMI 1640 배지에 2×10^6 세포/ml 되게 부유시켜 즉시 실험에 사용하였다. 이 때 typan blue dye exclusion에 의해서 측정된 세포의 생존율은 90%이상이었다.

6) 림프구 증식반응검사 : 하 등(1991) 및 Ha (1993)이 기술한 방법에 준하여 실시하였다. 위에서 준비한 마우스 비장세포를 2mM의 glutamin과 80 ug/ml 의 gentamicin이 들어있는 5% FCS-RPMI 1640배지에 2×10^6 세포/ml되게 부유하여 미리 측정하여 알아본 지적농도로 자극하여 flat bottomed 96-well microculture plate (Dinatech, Alexandria, VA)의 각 혈에 0.1ml 씩 (2×10^5 세포/ml)분주한 다음 37 °C 5% CO₂ 인큐베이터에 넣어 60시간 배양하였다. 배양세포에서의 ³H-thymidine(³H-TdR, specific activity 20ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA)의 Pulse는 0.5 uCi의 ³H-TdR을 각 혈에 배양종료 12시간 전에 가하여 실시하였으며, ³H-TdR의 incorporation 측정은 multiple cell harvester(Cambridge Technology, Cambridge, MA)로 세포를 수확한 후 liquid scintillation counter(Model Tri-300C, packard International, Switzerland)를 이용하였다.

7) 비타민 E 가 마우스의 여러 가지 장기로부터 *C. neoformans* 검출에 미치는 영향 : *C. neoformans* 검출은 하 등(1990a)이 기술한 방법을 참고하여 다음과 같이 실시하였다. Sabouraud dextrose agar 사면배지에 계대 배양중인 *C. neoformans* 를 Sabouraud dextrose broth 에 2회 계대배양하여 PBS로 3회 원심한 후 2×10^5 CFU를 각 마우스에 정맥주사하여 감염시켰다. 비타민 E 는 감염전 10일간 0.3ml(300mg)를 마우스 근육에 매일주사하여 투여하였다. 대조 마우스에는 옥수수기름 0.3ml를 투여하였다. *C. neoformans* 감염 마우스의 여러 장기, 즉 뇌, 신장, 간장 폐장 및 비장으로부터의 검출은 감염 후 4일에 각 장기를 무균적으로 적출하여 멸균된 유발에 넣어 마쇄하고 Sabouraud dextrose broth로 적절히 희석한 다음, Sabouraud dextrose 한천배지에 접종하여 35 °C에서 48-72시간 배양 후 나타난 CFU를 계산하였다.

8) 능동성 전신성 아나필락시스 유발을 위한 OVA 감작과 야기주사 : Ha 등(1986 및 1987), 하(1992b) 및 하 등(1987)의 방법에 따라 OVA로 능동성 전신성 아나필락시스를 유도하였다. 간기하면, 100ug OVA, 1mg 명반

및 2×10^9 세포가 포함된 백일해균 백신이 들어있는 혼합액 0.5ml 를 마우스에 단 1회 복강주사하여 감작하였다. 감작마우스와 대조마우스는 감작 후 18일에 500ug의 OVA(0.25ml)를 정맥주사하여 야기주사하여 OVA에 대한 능동성 아나필락시스를 유발하였다. 야기주사 후 나타나는 아나필락시스의 정도는 제 1표에 보는 바와 같이 나타나는 증상의 정도에 따라 하대유(1992)가 기술한 방법에 준하여 쇼크코어(Shock score)를 정하였다. 쇼크코어 0 은 아무런 증상이 나타나지 않은 경우, 1은 운동이 약간 감소하고 털이 일어선 경우, 2는 몸의 균형을 잡잡지 못하고 호흡곤란이 온 경우, 3은 볼펜을 수염을 건들이거나 몸통을 가볍게 찢어도 반응이 없는 경우, 4는 뒷다리가 마비가 온 경우, 5는 핀세트를 이용하여 마우스 꼬리를 꼬집어도 Haffner 반응(1929)이 없는 경우, 6은 발작과 혼수상태를 초래했으나 회복된 경우, 7은 야기주사 후 30-60 분에 사망한 경우 그리고 8은 야기주사 후 15분 이내에 사망한 경우 등으로 각각 정하였다. 아나필락시스 속으로 인한 사망율은 감작마우스를 야기주사하여 사망한 마우스 마리수를 관찰하여 백분율을 계산하였다.

9) 자료의 통계처리 : 각 실험군마다 5-10 마리의 마우스를 사용하여 실험하였으며 이렇게 얻은 수치의 평균치와 표준편차(S.D)를 구하고 student-t 분석을 하였다. 혈구응집반응의 유의성 검정은 Wilcoxon 2표본 검정법(Wilcoxon rank-sum test quoting 2-tailed P value)으로 실시하였다.

IV. 실험성적

비타민 E 가 SRBC에 대한 혈구응집소반응에 미치는 영향 : 제 1표에서 보는 바와 같이 비타민 E 투여 마우스의 혈구응집소가(Log₂역가)가 7.50 으로서 옥수수기름을 투여한 대조마우스의 5.50 보다 유의하게 높았다(P=0.0001)

비타민 E 투여가 SRBC에 대한 Arthus반응 및 DTH반응에 미치는 영향 : 제 1도에서 보는 바와 같이 비타민 투여 마우스의 Arthus 반응 및 24시간, 48시간 및 72 시간의 지연성과민반응이 모두 유의하게(P=0.001) 대조마우스에 비하여 모두 증가하였다.

비타민 E 투여가 DNFB에 대한 마우스의 접촉성 과민반응에 미치는 영향 : 제 2도에서 보는 바와 같이 비타민 E 투여마우스의 4시간, 24시간 및 72시간의 접촉성과민반응은 대조마우스에 비하여 모두 유의하게 (P=0.01)

증가되었다.

비타민 E 투여가 마우스 비장세포의 PHA, Con A 및 PWM에 대한 시험관내 증식반응에 미치는 영향 : 제 2표에서 보는 바와같이 비타민 E 투여마우스의 비장세포 증식반응은 PHA에 대한 반응은 대조마우스와 비슷하였으나, ConA와 PWM에 대한 증식반응은 대조군에 비하여 증가되었다.

비타민 E 투여가 마우스의 *Cryptococcus neoformans* 감염에 대한 저항에 미치는 영향 : 제 3도에서 보는 바와같이 비타민 E 투여 마우스의 뇌, 폐장, 간장, 비장 및 신

장으로부터 검출된 생존진균수는 대조마우스의 각 장으로부터 검출된 균수보다 유의하게 감소되었다. 따라서 비타민 투여는 마우스의 *C. neoformans*에 대한 저항을 증가시킴을 알 수 있었다.

비타민 E 투여가 OVA로 유도한 능동성 전신성 아나필락시스에 미치는 영향 : 제 4도에서 보는 바와 같이 비타민 투여마우스의 능동성 전신성 아나필락시스 shock score 및 능동성 전신성 아나필락시스에 의한 사망율은 비타민 E 를 투여하지 않은 대조마우스에 비하여 유의하게 ($P < 0.05$) 높았다.

Table 1. Effect of vitamin E on hemagglutinin response of mice to sheep red blood cell(SRBC)

Treatment of mice ^{a)}	N	HA titers(Log ₂) ^{b)}	Pvalue
Control(Corn oil)	10	5.50 ± 0.53	
Vitamin E	10	7.50 ± 0.53*	0.0001

^{a)} Mice were given intramuscular injection of 0.3ml (300mg) of Vitamin E before immunization on 10 consecutive days and daily thereafter throughout the course of experiments. Controls received 0.3ml of corn oil by i.m route for 10 consecutive days and daily thereafter throughout the course of experiments.

^{b)} Mice were immunized by intravenous injection on day 0

of 0.25ml SRBC (1×10^7 cells). Mice were bled at 7 days after immunization and individual serum for each bleeding was assayed for HA total HA titers. Each value represents mean ± SD from 10 mice.

*Statistically significant ($P=0.0001$) as compared with control.

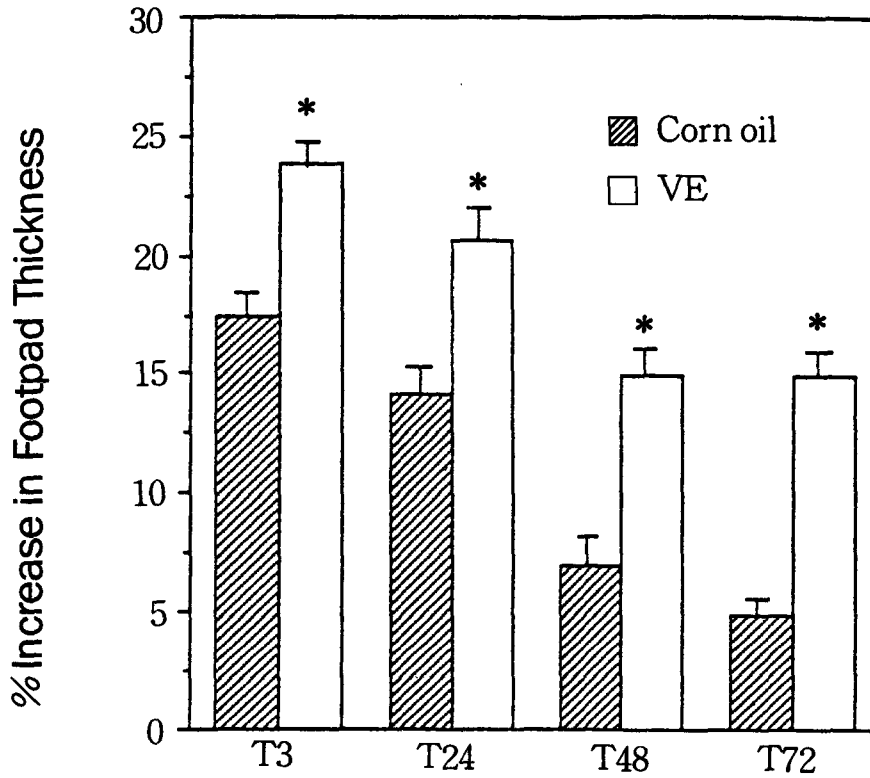


Figure 1. Effect of vitamin E(VE) on delayed type hypersensitivity of mice to SRBC. Mice were given intramuscular injection of 0.3ml(300mg) of vitamin E(VE) before sensitization on 10 consecutive days and daily thereafter throughout the course of experiments. Control mice received 0.3ml of corn oil during the same period as in VE. Mice were sensitized by intraperitoneal injection on day 0 of 0.5ml of SRBC(1×10^7 cells) in phosphate buffered saline and challenged on day 4 by injected into right rear footpad

of 0.03ml of (1×10^8 cells) 20% suspension of SRBC. Footpad swelling reaction were measured at 3 hr (Artaus), 24 hr and 48 hr (DTH).

% Increase=was calculated using the formula :

$\% \text{ Increase} = [(T_3, T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0) / T_0] \times 100$, where challenge. Each column and bar represents the mean \pm SD from 7-10 mice, respectively.

*Statistically significant ($P=0.01$) as compare with control.

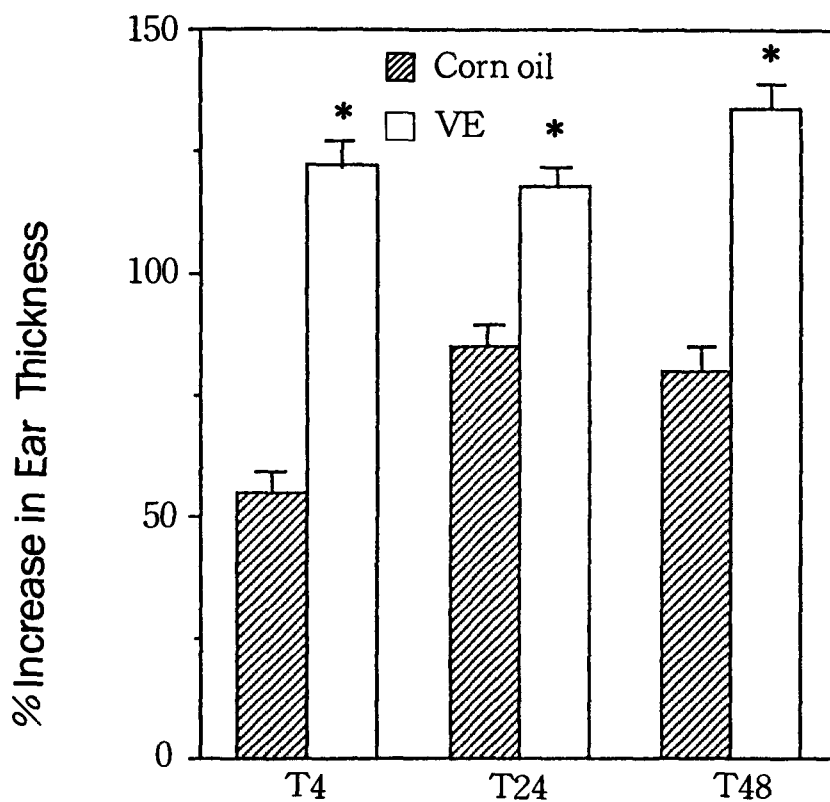


Figure 2. Effect of vitamin E(VE) on contact hypersensitivity of mice to dinitrichlorobenzene (DNFB). Mice were given intramuscular injection of 0.3ml(300mg) of VE before sensitization on 10 consecutive days and daily thereafter throughout the course of experiments. Control mice received 0.3ml of corn oil during the same period as in VE-mice. Mice were sensitized with 25ul of 0.5% DNFB on day 0 and day 1 by painting on the clipped abdomen on day 0 and + 1, respectively, and challenged 5 days later by applying 10ul

of 0.2% DNFB each side of right ear. Ear thickness was measured just before (T_0), 4hr(T_4), 24 hr(T_{24}) and 48 hr (T_{48}) after challenge. % Increase in ear swelling was calculated using the formula as in the legend of Figure 1. Each column and each bar represents the mean \pm SD from 10 mice, respectively.

*Statistically significant ($P < 0.01$) as compared with control.

Table 2. Effect of vitamin E (VE) on the proliferation response of mouse splenocytes to mitogen.

Treatment ^{a)}	[³ H] Td R uptake(cpm)			
	Medium	PHA	ConA	PWM
Control (Corn oil)	495	53,900	24,525	15,370
Vitamin E	416	51,083	37,298	37,350

^{a)} Mice were given by esophageal intubation 0.1ml(100mg) of vitamin E for 20 days before sacrifice. Control mice were given 0.1ml of corn-oil by esophageal intubation. Mouse spleen cells(2×10^6 cells/ml) were activated with phytohemagglutinin(PHA, 5 ug/ml), Concanavalin A

(Con A, 5ug/ml) and Pakeweed mitogen (PWM, 5ug/ml), and cultured 72 hrs in 5% FCS-RPMI 1640. [³H]Td R(0.5 u Ci/well) was pulsed at last 12 hrs before cell harvest.

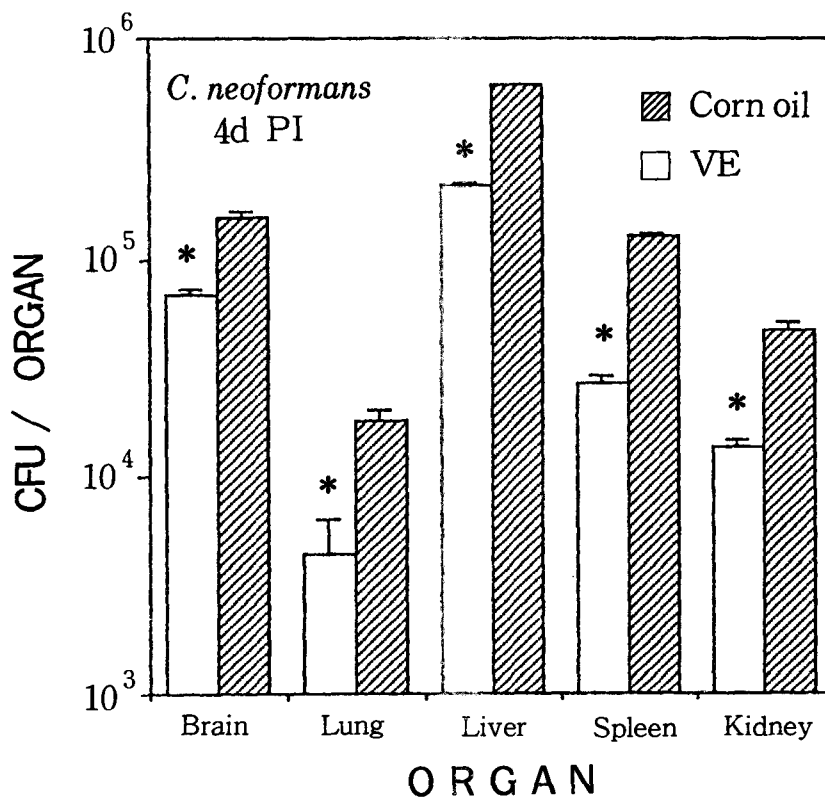


Figure 3. Effect of vitamin E(VE) on recovery of *Cryptococcus neoformans* from various organs of mice at 4 days postinfection(PI). Mice were given intramuscular injection of 0.3ml(300mg) of VE on 10 consecutive days before infection. Control mice received 0.3ml of corn oil during the same experimental period as in VE-injected mice. All mice were infected i.v. with 5×10^5 cells of *C.*

neoformans 184A and assayed for number (CFU) of viable *C. neoformans* at 4 day PI. Each column and each bar represents the mean + SD from 5 mice.

*Statistically significant($P=0.05$) as compared with control.

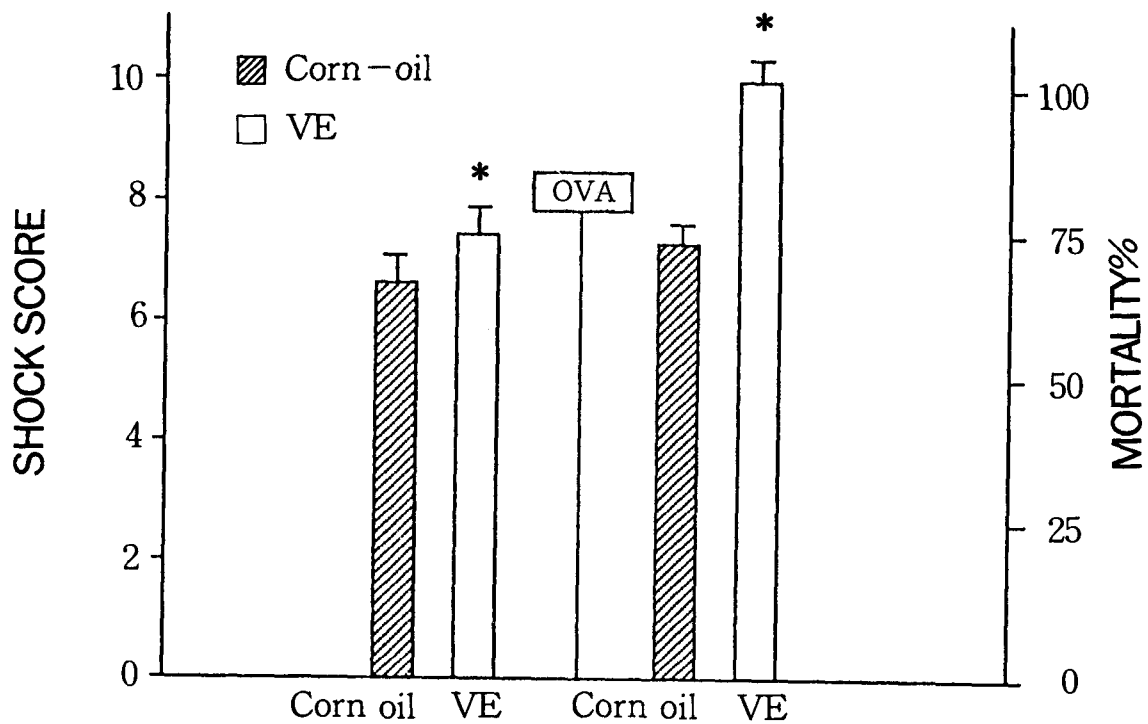


Figure 4. Effect of vitamin E(VE) on active systemic anaphylaxis induced by egg albumin (OVA) in ICR mice. Mice were given intramuscular injection of 0.3ml (300mg) of VE on 10 consecutive days before OVA sensitization. Control mice were given 0.3ml of corn oil for the same period as in VE-mice. All mice were sensitized by a single intraperitoneal injection(0.25ml) of

100 μ g OVA plus *Bordetella pertussis* vaccine containing 2×10^9 cells and 1mg alum and were challenged by i. v. injection of 500 μ g OVA 18 days later. Each column and each bar represents the mean value \pm SD from 20 mice.

*Statistically significant ($P < 0.05$) as compared with control.

V. 논 의

본 실험에서 SRBC로 면역조치 하기전 10일간의 300mg의 비타민 E 투여는 혈구응집항체의 생산을 증가 시킴을 알 수 있었는데, Tengerdy 등(1973)도 비타민 E를 사료에 첨가하면 SRBC 또는 파상풍변독소에 대한 반응이 항진되었다고 보고하였고, Campbell 등(1974)은 마우스 비장세포를 비타민 E 존재하에서 세포배양하면 SRBC에 대한 항체생산이 증가되었다고 보고하였다. 또한 Tanaka 등(1979)은 비타민 E에 의해서 햄스터 적혈구 뿐만아니라 hapten-carrier에 대한 항체반응이 항진되었으며 협조 T세포(T_H)의 활성을 증가시켰다고 보고한바 있다.

본 실험에서 비타민 E 투여는 SRBC에 대한 Arthus 및 DTH 반응 그리고 DNFB에 대한 접촉성과민반응 즉 세포성 면역반응을 유의하게 항진시킴을 관찰할 수 있었는데, 비타민 E와 관련하여 이에 관한 다른 연구자의 보고는 찾아볼 수 없어서 문헌고찰을 할 수는 없지만 흥미있는 실험결과라고 사료되었다. Bendich 등 (1983)은 SHR의 비장세포는 PHA, ConA 및 LPS 등의 마이토펬에 대한 증식반응이 감소되어 있었으나 이 랫트에 비타민 E를 투여하였더니 그 반응이 정상으로 회복되었고, 흉선세포의 rosette 형성도 증가되었다고 보고하였고, Bendich 등(1984)은 기니픽에 있어서도 비타민 E 투여에 의해서 그들 림프구의 PHA, ConA 및 LPS에 대한 증식반응이 항진되었고, 이와 같은 증식반응의 항진은 랫트에 있어서도 관찰되었다고 보고하였다 (Bendich 등, 1986). 저자의 본 실험에 있어서도, 비타민 E 투여는 마우스비 장세포의 PHA에 대한 반응은 대조군의 그것과 비슷하였으나 ConA와 PWM에 대한 증식반응은 대조군의 그것에 비하여 증가하였다. 최근 Chi 등(1992)은 비타민 E 투여는 마우스 비장세포의 PHA 와 ConA에 대한 증식반응에는 유의한 차이는 보이지 않으나 PWM에 대한 증식반응은 증가시켰고 혼합림프구반응 및 LPS에 대한 증식반응은 오히려 감소시켰다고 보고하였다.

Heizerling 등(1974a 및 1974b)은 비타민 투여는 마우스의 폐렴구균 및 대장균에 대한 저항력을 증가시켰다고 보고하였고 Boxer 등(1979 및 1986)은 비타민 E가 다핵형 백혈구의 살균력과 화학주성을 증가시킨다고 보고하였다. 또한 Watson 등(1982)은 비타민 E 투여가 *Listeria monocytogenes*에 대한 마우스의 저항을 증가시켰다고 보고하였다. 그러나 *C. neoformans*에 대한 저항

에 미치는 비타민 E의 영향에 관한 연구보고는 찾아볼 수 없었다. *C. neoformans*는 탄수화물 캡슐(capsule)을 특징적으로 가지고 있는 효모균이며, 호흡기도를 통하여 사람에게 감염되지만 대개 증상이 없거나 비특이적인 폐크립토크쿠스증(pulmonary cryptococcosis)을 일으키고, 이 진균을 대량으로 흡인하면 정상인이라도 파종성 크립토크쿠스증을 일으키며, 또한 AIDS 환자등 세포면역결핍 또는 억제상태에있는 사람에게 폐감염이 전신적으로 전파되어 중추신경계를 포함한 여러 장기에 빈번히 기회성감염(opportunistic infection)을 일으킨다고 알려져 있고, 특히 세포성 면역반응은 *C. neoformans*의 보호면역에 있어서 대단히 중요한 역할을 담당한다(하 등, 1990a). 저자의 본 실험에서 비타민 E 투여 마우스의 뇌, 폐장, 간장, 비장 또는 신장등의 장기로부터의 검출된 *C. neoformans*의 CFU가 대조마우스에 비하여 감소되었음을 관찰할 수 있었는데, 이는 비타민 E가 마우스의 *C. neoformans*에 대한 저항을 증가시킴을 강력히 시사하며, 또한 이는 기초의학적으로는 물론 임상학적으로나 간호학적으로 매우 중요한 실험결과라고 사료되었다.

Chan 등(1980), Goetzl(1980), Carpenter 등(1986) 및 Afzal 등(1986)은 비타민 E가 프로스타글란딘, thromboxane 및 leukotriene 합성을 조절하여 면역조절에 중요한 역할을 한다고 보고하였고, 특히 Lawrence 등은 비타민 E가 아라키돈산의 lipoxigenase 경로를 억제하여 면역반응을 항진시킨다고 보고하였다. 저자는 이와 같은 이전의 보고를 참작하여 비타민 E 투여가 능동성 전신성 아나필락시스의 유발을 억제하리라고 기대하였으나, 예상했던 것과는 달리 오히려 비타민 E 투여가 능동성 아나필락시스의 shock score에 있어서 마우스의 사망율을 증가시켰는데, 이와 같은 결과는 처음의 보고이며 임상적으로나 간호학적으로도 매우 중요한 실험결과라고 사료되었다. Goetzl(1980)은 저농도의 비타민 E는 아라키돈산의 lipoxigenation을 항진시키나 고농도의 비타민 E는 아라키돈산의 lipoxigenation에 억제작용을 나타낸다고 보고하였는데, 본 실험의 제한점에서도 앞에서 지적했듯이, 본 실험에서는 상당히 고농도(300 mg)의 비타민은 투여 하였으나 혈장 또는 혈청농도를 측정하지않아 그 확실한 기전은 본 실험만으로는 알 수 없고, 더욱이 알려지 특히 능동성 전신성 아나필락시스 유발에 있어서 비만세포와 호염구 뿐만아니라 혈소판 등 많은 세포들이 관여하고, 이들 세포의 활성화(activation)와 촉발(triggering)이 복잡다

단하고 이들 세포들로부터 만들어진 화학물질로 히스타민, 류코트라이엔스(LTC₄+LTD₄, LTB₄), 프로스타글란딘, 트롬복세인, PAF, 트립테이스, 키니노젠에이스 등 많이 있기때문에(하, 1992c), 본 실험만으로는 확실히 알 수 없고 앞으로 더욱 광범위하게 연구해야할 중대한 연구과제라고 사료되었다.

VI. 요약

본 실험은 비타민 E가 1) 면양적혈구(SRBC)에 대한 혈구응집소반응을 항진할 수 있을 것인가. 2) SRBC에 대한 Arthus반응과 지연성과민반응(DTH) 그리고 dinitrofluorobenzene(DNFB)에 대한 접촉성과민반응을 조절할 수 있을 것인가. 3) 마우스의 비장세포의 마이트젠(mitogen)에 대한 증식반응을 항진시킬 수 있을 것인가. 4) *Cryptococcus neoformans* 감염마우스의 뇌, 폐장, 간장, 비장 및 신장으로부터의 검출을 감소시킬 수 있으며, 그리고 5) Chicken-gamma globulin(CGG)으로 유도한 능동성 전신성 아나필락시스(ASA)의 유발에 영향을 미칠 것인가에 대하여 실험하였다. ICR 마우스를 항원으로 면역하기전 10일간 0.3ml(300mg)의 비타민 E를 근육주사하여 투여하거나, 마이트젠 반응 실험에 있어서는 마우스를 희생하기전 20일간 매일 0.1ml(100mg)의 비타민 E를 식도삽관하여 투여하였다. 실험결과 유의성 검정은 Wilcoxon rank-sum test 와 t-test 로 실시하였다. 비타민 E는 처리 마우스는 SRBC에 대한 항체반응을 유의하게 증가시켰으며 (P=0.0001) SRBC에 대한 Arthus 반응과 DTH반응, 그리고 DNFB에 대한 접촉성반응의 증가를 나타냈다 (P=0.001). PHA에 대한 비장세포의 증식반응은 유의한 차이는 없었으나 ConA 나 PWM에 대한 증식반응은 대조에 비하여 비타민 E 처리 마우스에서 증가되었다. 흥미롭게도, 비타민 E 투여는 감염 마우스의 뇌, 폐장, 간장, 비장 또는 신장으로부터 *C. neoformans* 검출을 유의하게 감소시켰는데, 이는 비타민 E는 본 진균의 감염에 대한 저항을 증가시킴을 강력히 시사한다. 기대했던 것과는 달리, 비타민 E 투여는 CGG로 유도한 ASA의 유발을 증가시켰다.

이상의 결과로, 비타민 E 투여는 체액성 및 세포성 면역반응을 증가시키고 *C. neoformans* 에 대한 마우스의 저항을 증가시키나 CGG에 대한 치명적 ASA 유발을 항진함을 결론지을 수 있었으며, 이 효과를 설명할 수 있는 기전은 앞으로 더욱 연구할 필요가 있다고 사료되

었다.

참 고 문 헌

- 김금재(1989). 소음스트레스가 면역반응에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 간호학회지, 19(2), 135-146.
- 김금재(1991). 에탄올투여가 마우스의 면역반응에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 간호학회지, 21(1), 5-15.
- 김금재(1992). 단식과 cyclophosphamide가 면역반응에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 중앙의학, 57(3), 187-195.
- 박일화, 김숙선, 우수미(1981). 영양원리와 식이요법. 서울 이화여자대학교출판부.
- 하대유, 박영민, 최기철, 박종욱, 이현구(1990a). *Cryptococcus neoformans* 감염에 있어서 세포면역반응 조절. II *Cryptococcus neoformans* 에 대한 세포성 면역반응의 특성, 대한면역학회지, 12(1), 65-74.
- 하대유, 박영민, 유현열(1990b). Platelet activating factor 가 전신성 anaphylaxis 에 미치는 영향. 대한면역학회지, 12(2), 145-159.
- 하대유, 박병숙, 황희성(1991). 알콜이 IL-2 및 IL-6 생산과 체액성 및 세포성 면역반응에 미치는 영향. 대한면역학회지, 13(1), 17-31.
- 하대유, 이현구, 박형주, 이황호, 지용철, 임선영(1992a). Interleukin 4 에 대한 단일 클론항체 (IIb11)와 inter ferons가 IgE 항체 생산과 과민반응에 미치는 영향. II. 혈소판 응집인자 수용체 길항제가 감각마우스의 능동성 전신성 아나필락시스에 미치는 영향. 대한면역학회지, 14(2), 231-245.
- 하대유(1992b). 알콜급식이 마우스의 전신성 능동성 아나필락시스 유발에 미치는 영향. 알레르기, 12(3), 314-319.
- 하대유(편역)(1992c). 로이트 · 그림으로본 면역학, 서울; 고문사.
- Afzal, M., Tengerdy, R. P., Brodie, S. J., DeMartini, J. C., Ellis, R. P., Jones, R. L. and Kimberling, C. V.(1986). The immune response in rats experimentally infected with *Brucella ovis*. Res. Vet. Sci, 41, 85-89.
- Ayres, S., Jr. and Mihan, R.(1978). Is vitamin E

- involved in the autoimmune mechanism? Cutis, 21, 321-325.
- Bendich, A., Gabriel, E. and Machlin, L. J. (1983). Effect of dietary level of vitamin E on the immune system of spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive Wistar Kyoto (WKY) rat. J. Nutr, 113, 1920-1926.
- Bendich, A., D'Apolito, P., Gabriel, E. and Machlin, L. J. (1984). Interaction of dietary vitamin C and vitamin E on guinea pig immune responses to mitogens. J. Nutr, 144, 1588-1593.
- Bendich, A., Gabriel, E. and Machlin, L. J. (1986). Dietary vitamin E requirement for optimum immune responses in the rat. J. Nutr, 166, 675-681.
- Bieri, H.G., Corash, L. and Hubbard, V.S. (1983). Medical uses of vitamin E. N. Eng. J. Med, 308, 1063-1071.
- Bodwell, C. E. and Erdman, J. W. Jr (1988). Nutrient Interaction New York, NY, Dekker.
- Boxer, J.A., Oliver, J.M., Spielberg, S.O., Allen, M. and Shulman, J.D. (1979). Protection of granulocytes by vitamin E in glutathione synthetase deficiency. N. Engl. J. Med, 301, 901-905.
- Boxer, L.A. (1986). Regulation of phagocyte function by alpha-tocopherol. Proc. Nutr. Soc, 45, 333-338.
- Campbell, P. A., Cooper, H. R., Heinzerling, R. H. and Tengerdy, R. P. (1974). Vitamin E enhances *in vitro* immune response by normal and non-adherent spleen cells. Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 146, 465-469.
- Carpenter, M. P. (1986). Effects of vitamin E on the immune system. In vitamins and cancer. F. L. Meyskens & K. N. Prasad, Eds, 199-211.
- Chan, A. C., Allen, C. E. and Hegarty, P. V. J. (1980). The effects of vitamin E depletion and repletion on PG synthesis in semitendinosus muscle of young rabbits. J. Nutr, 110, 66-81.
- Chavance, M., Brubacher, G., Herbeth, B., Vernhes, G., Mikstacki, T., Dete, F., Fournier, C. and Janot, C. (1984). Immunological and nutritional status among the elderly. In Topics of Aging Research in Europe. A. L. deWitz, Ed, 231-237, Europe. Amsterdam.
- Chi, D. S., Gong, L., Daigneault, E. A. and Kostrzewa, R. M. (1992). Effect of MPTP and vitamin E treatments on immune function in mice. Int. J. Immunopharmac, 14, 739-746.
- Corwin, L. M. and Gordon, R. K. (1982). Vitamin E. biological, hematological and clinical aspects. Ann. New York Acad. Sci, 393, 437-451.
- Goetzl, E. J. (1980). Vitamin E modulates the lipoxygenation of arachidonic acid in leukocytes. Nature, 288, 183-185.
- Ha, T. Y., Reed, N. D. and Crowle, P. K. (1986). Immune-response potential of mast cell-deficient W/W mice. Int. Archs Allergy Appl. Immunol, 80, 85-94.
- Ha, T. Y. and Reed, N. D. (1987). Systemic anaphylaxis in mast cell-deficient mice of W/W and SI/SId genotypes. Exp. Cell. Biol, 55, 63-68.
- Ha, T. Y. (1993). Effect of ethanol feeding on interleukin production, tumor induction, infection and other immuno-competency in mice. Advances in the Biosciences (Pergamon Press Ltd), 86, 143-152.
- Heinzerling, R. H., Tengerdy, R. P., Wick, L. L. and Lueker, D. C. (1974a). Vitamin E protects mice against *Diplococcus pneumoniae* type I infection. Infect. Immun, 10, 1292-1295.
- Heinzerling, R. H., Nockels, C. F., Quarles, C. L. and Tengerdy, R. P. (1974b). Protection of chicks against *E. coli* infection by dietary supplementation with vitamin E. Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 146, 279-283.
- Hill, H. R., Augustine, N. H., Rallison, M. L. and Santos, J. I. (1983). Defective monocyte chemotactic response in diabetes mellitus. J. Clin. Immunol, 3, 70-77.
- Lawrence, L. M., Mathis, M. M., Nockels, C. F. and Tengerdy, R. P. (1985). The effect of vitamin E on prostaglandin level in the immune organs of chicks during the course of an *E. coli* infection. Nutr. Res, 5, 497-509.

- Likoff, R. O., Guptill, D. R., Lawrence, L. M., McKay, C.C., Mathias, M. M., Nockels, C. F. and Tengerdy, R.P.(1981). Vitamin E and aspirin depresses prostaglandins in protection of chickens against *E. Coli* infection. Am. J. Clin. Nutr., 34, 245-299.
- Smigel, K.(1992). Vitamin E moves on stage in cancer prevention studies. J. Natl. Cancer Inst, 84, 996-997.
- Steiner, M. and Anastasi, J.(1976). An inhibition of the platelet release reaction. J. Clin. Invest. 51, 732-736.
- Tanaka, T., Fujiwara, H. and Torisu, M. (1979). Vitamin E and immunity. I. Enhancement of helper T-cell activity. Immunology, 38, 727.
- Tengerdy, R. P., Heinzerling, R. H., Brown, G. L. and Mathias, M. M.(1973). Enhancement of the humoral immune response by vitamin E. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol, 44, 221-227.
- Watson, R. P. and Petro, T. M. (1982). Cellular immune response, corticosteroid levels and resistance to *Listeria monocytogenes* and murine leukemia in mice fed a high vitamin E diet. Ann. New. York. Acad. Sci, 393, 205-210.
- Watson, R. R and Leonard, T. K.(1986). Selenium and vitamin A, E and C : Nutrients with cancer prevention properties. J. Am. Diabetic Assoc, 85, 505-510.
- Xu, M. J., Plezia, P. M., Alberts, D. S., Emerson, S. S., Peng, Y. M., Sayers, S. M., Liu, Y., Ritenbaugh, C. and Gensler, H. L.(1992). Reduction in plasma or skin alphanatocopherol concentration with long term oral administration of beta-carotene in humans and mice. J. Natl Cancer Inst, 84, 1559-1565.

- Abstract -

Effect of Vitamin E Treatments on The Humoral and Cellular Immune Responses in Mice.

- Animal experiment for nursing care of vitamin E - deficient patients -

Kim, Kum Jae**

Vitamin E, which has its advocates in the treatment of diabetes mellitus, autoimmune disease, cancer and peripheral vascular and thromboembolic disease, has now been alleged to have a powerful antioxidant effect and to affect various biological activities such as fertility factor, inhibition of human platelet aggregation and stabilization of biological membranes.

The present study was designed to test whether vitamin E(alpha-tocopherol) can : (1) enhance the hemagglutinin response to sheep red blood cells (SRBC), (2) modulate Arthus and delayed type hypersensitivity(DTH) to SRBC and contact hypersensitivity to dinitrofluorobenzene (DNFB). (3) enhance the mitogenic response of murine splenocyte, (4) decrease the recovery of *Cryptococcus neoformans* from brain, lung, liver, spleen and kidney of infected mice and (5) have an inhibitory or enhancing effect on the induction of active systemic anaphylaxis(ASA) induced by chicken-gamma globulin (CGG) in mice. Mice were given either intramuscular injections of 0.3ml (300mg) of vitamin E before immunization or were infection for 10 consecutive days or were given by vitamin E esophageal intubation, 0.1ml(100mg), for 20 days before sacrifice for the mitogenic response experiments. It was found that vitamin E treated mice showed a significant enhancement in hemagglutinin response, Arthus reaction and DTH to SRBC and contact hypersensitivity to DNFB.

* Department of Nursing, Medical-School, Chonbuk National University

There was no significant difference in the mitogenic response to phytohemagglutinin(PHA), but the response to concanavalin A(ConA) or pokeweed mitogen(PWM) was increased in vitamin E-treated mice. Interestingly, the vitamin E administration before *C. neoformans* infection decreased significantly the recovery of *C. neoformans* from brain, lung, liver, spleen and kidney of the infected mice as compared with that of the control mice, strongly suggesting that vitamin E

pretreatment may increase the resistance of mice to the fungal infection. Unexpectedly, vitamin E administration enhanced the production of CGG-induced ASA. Taken together, it can be concluded that vitamin E administration may increase the humoral and cellular immune response and resistance to *C. neoformans* infection, but enhance the induction of ASA to CGG. Further studies are necessary to clarify the underlying mechanism accounting for these effects.