

리포솜 피포성 buparvaquone의 *Theileria sergenti* 인공감염 송아지에 대한 치료효과

김 두
강원대학교 축산대학 수의학과
(1992년 9월 18일 접수)

Therapeutic efficacy of the liposome incorporated buparvaquone on experimental *Theileria sergenti* infection in calves

Doo Kim
Department of Veterinary Medicine, College of Animal Agriculture, Kangweon National University
(Received Sep 18, 1992)

Abstract : This study was carried out to completely cure the experimental bovine theileriasis with small unilamella vesicle liposome incorporated buparvaquone which was effective both to schizonts in lymphocyte of lymph nodes and piroplasmic stage in erythrocytes.

Small unilamella vesicle liposome incorporated buparvaquone was prepared by French pressure cell method using egg phosphatidylcholine. The diameter of the vesicles was ranged from 5 to 220 nm, but the most vesicles were ranged from 10 to 50 nm in diameter. The incorporation rate for buparvaquone was 100%.

Parasitaemia of the 10 calves inoculated with 5×10^8 erythrocytes infected with *Theileria sergenti* were first detected from on day 16 to day 23 after inoculation.

In calves treated with a dose rate 2.5 mg/kg BW of free buparvaquone, a gradual decrease in piroplasmic parasitaemia was observed following treatment to day 5. However parasitaemia levels returned to near pretreatment values after approximately 60 days.

In calves treated with a dose rate 5.0mg/kg BW of free buparvaquone, parasitaemia were disappeared on day 3 after treatment, but there was a mild recrudescence of infection on day 28 after treatment.

In calves treated intraavenously with a dose rate 2.5 mg/kg BW of buparvaquone incorporated in liposome, the calves were all cured on day 2 or day 3 after treatment.

In calves treated subcutaneously and intraperitoneally with a dose rate 2.5 mg/kg BW of buparvaquone incorporated in liposome, parasitaemia were disappeared on day 3 or day 4 after treatment, but there was a mild recrudescence of infection on day 40 or day 45 after treatment.

Key words : bovine, *Theileria sergenti*, buparvaquone, liposome.

서론

*Theileria sergenti*는 소의 임파구 내에서 무성생식한 후

적혈구에 기생하는 주혈기생충으로서 용혈에 의한 빈혈을 유발시켜 지역에 따라 높은 폐사와 성장지연 등의 경

* 이 논문은 한국과학재단의 1991년도 기초연구비에 의하여 연구되었음.

제적인 손실을 끼치고 있다.¹⁻⁵

*Theileria sergenti*의 치료에 사용되는 화학요법제는 주로 8-aminoquinoline 제제이나 이들 약제에 내성을 보이는 원충들이 출현하여 약제의 선택에 어려움이 따르고 있다. 최근에는 항말라리아제인 나프토크논계의 buparvaquone이 *T. sergenti*의 적내형 분열소체와 임파구내의 번식체에도 유효한 것으로 확인되었으며 다른 항타일레리아 제제보다도 부작용도 적고 속효성인 것으로 알려졌다. 그러나 국내에서는 아직 이용되지 않고 있다. 그러나 buparvaquone도 다른 항타일레리아제제와 마찬가지로 원충을 완전히 구제하지 못하기 때문에 감염우가 치료 후에도 보균우로 남게 된다.^{2,6}

리포솜은 합성의 小胞로서 정맥으로 투여하면 빠르게 세포내피계의 탐식세포에 의하여 탐식되어 세포의 lysosome 내에 정착하게 되며, 약리학적으로 활성이 있는 제제를 리포솜에 피포시키면 약제를 단독으로 사용했을 때보다 세포내 기생성 감염병에 우수한 치료효과를 얻을 수 있다.⁷

세포내에 기생하는 기생충은 숙주세포 내에서 parasitophorous vacuole에 둘러싸여 있으며 숙주세포의 lysosome 쪽으로 fision을 형성하여 lysosome으로 들어온 영양분을 공급받는다. 그러므로 기생충 vacuole이 lysosome과 fusion되는 것은 liposome에 피포된 약제의 효과적인 치료에 강력한 수단을 제공하는 결과가 된다.⁸ 또한 복강이나 피하로 적은 입자의 리포솜을 투여하면 국소 임파절에도 효과적으로 약제를 분포시킬 수 있다.^{9,10} 이러한 방법으로 임파절 내에 buparvaquone을 높은 농도로 분포시키면 *T. sergenti*를 완전 구제할 수 있는 가능성이 높아진다.

Alving 등¹¹과 Alving 등¹²은 사람에서 문제시되는 원충성 질병인 leishmaniasis와 말라리아의 치료를 위하여 항원충제제를 리포솜에 피포시켜 실험동물에 투여하였을 때 높은 치료와 예방효과를 나타내었다고 보고하였다.

본 연구에서는 *T. sergenti*의 적내형 분열소체와 임파구내의 번식체에 효과가 있는 것으로 알려진 buparvaquone을 리포솜에 피포시켜 인공감염시킨 송아지에 투여하여 임파절에도 높은 농도를 유지함으로써 임파절과 적혈구 내에 기생하는 *T. sergenti*를 사멸시켜 타일레리아증을 완치시키는 것을 목적으로 하였다.

재료 및 방법

실험기간: 치료실험은 진드기의 감염의 위험성 때문에 91년 11월에서 92년 2월에 걸쳐 실시하였다.

실험동물: 2주일 간격으로 2회에 걸쳐 적혈구를 검사하여 *T. sergenti*에 감염되지 않는 것을 확인한 체중 약 100kg의 Hostein 송아지 10두(암컷 5두, 수컷 5두)를 우사 내에서 집단사육하면서 1주일에 2회씩 외부구충제(불포, 바이엘화학)를 우체에 뿌렸다.

***Theileria sergenti*의 감염:** 인공감염을 위하여 7% 적혈구가 *T. sergenti*에 감염된 성우의 혈액을 채취하여 5×10^8 개의 감염적혈구를 좌측경부에 피하접종하였다. 인공감염 후 감염이 확인될 때까지 매일 체온, PCV와 적혈구의 *T. sergenti*의 감염상태를 확인하였다.

감염상태의 관찰: 적혈구의 *T. sergenti*의 감염율은 정맥에서 채혈하여 혈액도말표본을 만들고 Giemsa 염색한 후에 1,000배의 현미경 시야를 20개를 확인하여 감염적혈구의 백분율로 나타내었다. 매일 임상증상과 체온을 측정하였다.

시약: Egg phosphatidylcholine(EPC), Triton X-100, Chloroform은 Sigma Chemical Co.(St.Louis)에서 구입하였다. Buparvaquone (2-trans(4-t-butylcyclohexyl) methyl-3-hydroxy-1, 4-naphthoquinone) standard (순도 95% 이상)와 근육주사용 buparvaquone(Butalex)은 Pitman-Moore Limited (Harefield, England)가 제공한 것을 사용하였다.

리포솜 제조 및 성장조사: Small unilamella vesicle (SUV) liposome은 EPC로 제조하였다. EPC 100mg과 chloroform 2%로 용해시킨 buparvaquone 20mg를 500ml flat bottom flask에서 혼합한 후 40°C rotary evaporator에서 약 2시간 동안 증발 건조시켰다. 건조된 EPC와 buparvaquone 건조막에 5ml의 생리적식염수를 첨가한 후 bath sonicator(Branson 2200; Branson Ultrasonics Corp.)에서 20분 동안 용해하여 stable plurilamellar vesicle (SPLV)를 만들었다. 이 SPLV 현탁액을 Lelkes 등¹³의 방법에 따라 French pressure cell을 이용하여 SUV liposome을 제조하였다. 즉, French pressure cell (Aminco, American Instrument Company, Maryland USA)에 SPLV 현탁액을 채운 후 universal testing machine(Shimadzu, Japan)에 설치하고 압력을 가하여 17,000 psi에 도달한 후 이 압력을 유지하면서 분당 30방울씩 빼내었다. 이 방법을 3회 반복하였다.

리포솜의 buparvaquone 피포율 측정: SUV liposome 내의 buparvaquone의 농도는 10,000 g에서 10분 동안 원심분리한 후 상층액을 버리고 triton X-100으로 liposome을 파괴시킨 후에 UV-spectrophotometer를 사용하여 파장 480nm에서 측정하였다.

리포솜의 전자현미경 관찰: SUV liposome의 형태와 크기의 분포는 투과전자현미경으로 조사하였다. 즉, S-

UV liposome 현탁액을 생리식염수로 5배 희석하여 200-mesh carbon coated grids (JEOL Inc, Japan)에 떨어뜨려 부착시킨 후 2% ammonium molybdate로 negative stain하였다. 염색한 grid는 투과전자현미경(Zeiss EM 109)으로 관찰하였다. SUV liposome의 지름은 image analyzer(model Q 520, Cambridge)를 사용하여 측정하였다.

약제투여 방법 : 송아지의 적혈구에 *Theileria sergenti*가 감염된 것이 확인되면 접종 30일째에 5개 군으로 나누어 다음과 같이 약제를 투여하였다.

- 1군 : Free buparvaquone 2.5mg/kg, BW. 근육주사 2두
- 2군 : Free buparvaquone 5.0mg/kg, BW. 근육주사 2두
- 3군 : Liposome incorporated buparvaquone 2.5mg/kg, BW. 정맥주사 2두
- 4군 : Free buparvaquone 2.5mg/kg, BW. 근육주사 2두 + Liposome incorporated buparvaquone 2.5mg/kg, BW. 정맥주사

5군 : Free buparvaquone 2.5mg/kg, BW. 근육주사 2두 + Liposome incorporated buparvaquone 2.5mg/kg, BW. 복강내주사와 피하주사로 각각 반씩 투여

치료판정 : 임상증상은 약제투여 후 60일간 매일 확인하였으며 적혈구의 원충감염상태, 체온 및 PCV의 조사는 약제투여 후 10일간은 매일, 11일에서 30일까지는 격일 간격 그리고 31일에서 60일까지는 5일 간격으로 실시하였다. 약제투여 후 적혈구 내에서 원충이 사라진 다음 치료 후 60일까지 재출현하지 않으면 완치된 것으로 판정하였다. 이때 감염 음성판정은 1,000배의 현미경 시야에서 적어도 20개의 시야에서 감염 적혈구가 나타나지 않을 때 내렸다.

결 과

Small unilamella vesicle(SUV) 리포솜의 성상 : ECP 100mg에 20mg의 buparvaquone을 혼합하여 만든 SUV 리포솜은 buparvaquone을 100% 피포시켰다. Negative

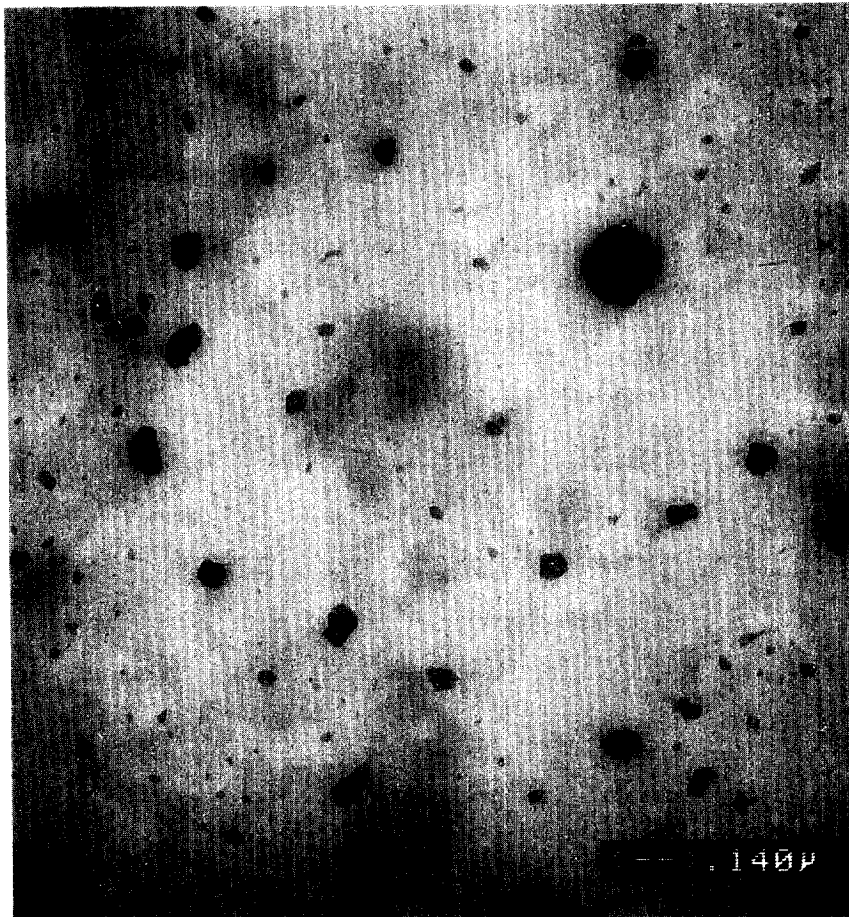


Fig 1. Transmission electron micrography of small unilamella vesicle liposomes negative-stained.

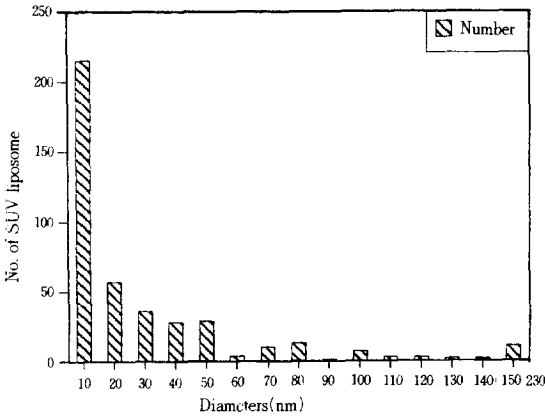


Fig 2 Size distribution of a small uniamella vesicle liposome preparation by image analysis of negative-stained grids.

stain하여 50,000배의 투과전자현미경으로 리포솜을 관찰한 사진은 Fig 1과 같다. SUV 리포솜은 지름이 5~220nm이었으며 각 지름별 분포는 Fig 2와 같으며 대부분이 10~50nm이었다.

*Theileria sergenti*의 인공감염: 체중 100kg 정도의 10두의 송아지에 *T sergenti*에 감염된 5×10^8 개의 적혈구를 피하접종한 결과, 접종 16~23일에 적혈구 내에 원충이 출현하였으며 접종 30일째의 적혈구 감염율은 Table 1과 같이 1.8%~9.4%이었다. 원충의 증식에 따른 임상 증상은 나타나지 않았으며 체온과 PCV도 대부분 정상 수준이었으나 No. 9 송아지는 PCV가 23%까지 감소되었다.

*Theileria sergenti*에 대한 약제의 치료효과: 5개 군으로 나누어 buparvaquone을 투여한 치료효율은 Table 1과

같다. 근육주사용 buparvaquone을 2.5mg/kg, BW로 투여한 1群的 2두는 치료 당시 각각 4.2%와 4.7%의 감염율이었다. 치료 1일째에는 1.2%의 감염율로 감소되었으며 치료후 5일째에는 0.01% 수준까지 감소하였으나 그 이후 감염율이 점차 증가하여 치료 60일째에는 각각 3.5%와 2.3%로 완치가 되지않았다.

2群은 근육주사용 buparvaquone을 5.0mg/kg, BW로 투여한 群으로 투여 1일째에 *T sergenti*의 핵농축이 시작되어 투여 3일째에 2두 모두 *T sergenti*가 적혈구에서 검출되지 않았다. 그후 각각 투여 28일과 30일째에 *T sergenti*가 적혈구 내에 재출현하여 치료 60일째에는 각각 0.5%와 1.1%의 감염율을 나타내었다.

리포솜에 피포시킨 buparvaquone을 2.5mg/kg, BW로 정맥내로 투여한 3群은 치료시 적혈구의 *T sergenti* 감염율이 각각 3.5%와 8.3%이었으나 치료후 각각 3일과 2일째에 *T sergenti*가 적혈구 내에서 사라졌으며 치료 60일째까지 적혈구 내에서 검출되지 않았다.

리포솜에 피포시킨 buparvaquone을 2.5mg/kg, BW로 정맥주사로 투여하고 근육주사용 buparvaquone을 2.5mg/kg, BW로 투여한 4群은 치료후 각각 2일째와 3일째에 적혈구에서 *T sergenti*가 사라졌으며 치료 60일째에는 검출되지 않았다.

리포솜에 피포시킨 buparvaquone을 2.5mg/kg, BW로 피하와 복강으로 절반씩 주사하고 근육주사용 buparvaquone을 2.5mg/kg, BW로 투여한 5群에서는 투여후 각각 3일과 4일째에 적혈구에서 *T sergenti*가 사라졌으며 각각 치료 45일째와 40일째에 적혈구에 재출현하여 치료 60일째에는 각각 0.1%와 1.4%의 감염율을 나타내었다.

치료후 각 群 모두에서는 약물투여에 의한 부작용은

Table 1. Summary of observations and anti-theilerial activity of buparvaquone

Group*	No. of calf	Parasitemia at treatment(%)	PCV at treatment	Days after treatment to nil parasitemia	Days after treatment to reoccurrence of parasitemia	Parasitemia(%) at final examination
Group I	1	4.2	33	Still present	No effect	3.5
	2	4.7	34	✓	✓	2.3
Group II	3	2.0	37	3	28	0.5
	4	7.1	30	3	30	1.1
Group III	5	3.5	35	3	60	0
	6	8.3	31	2	60	0
Group IV	7	1.8	36	2	60	0
	8	4.2	28	3	60	0
Group V	9	3.0	23	3	45	0.1
	10	9.4	30	4	40	1.4

*Group I—Free buparvaquone 2.5 mg/kg BW, IM.

Group II—Free buparvaquone 5.0 mg/kg BW, IM.

Group III—Liposome incorporated buparvaquone 2.5 mg/kg BW, IV.

Group IV—Free buparvaquone 2.5 mg/kg BW, IM.

+Liposome incorporated buparvaquone 2.5 mg/kg BW, IV.

Group V—Free buparvaquone 2.5 mg/kg BW, IM.

+Liposome incorporated buparvaquone 2.5 mg/kg BW, IP and SC.

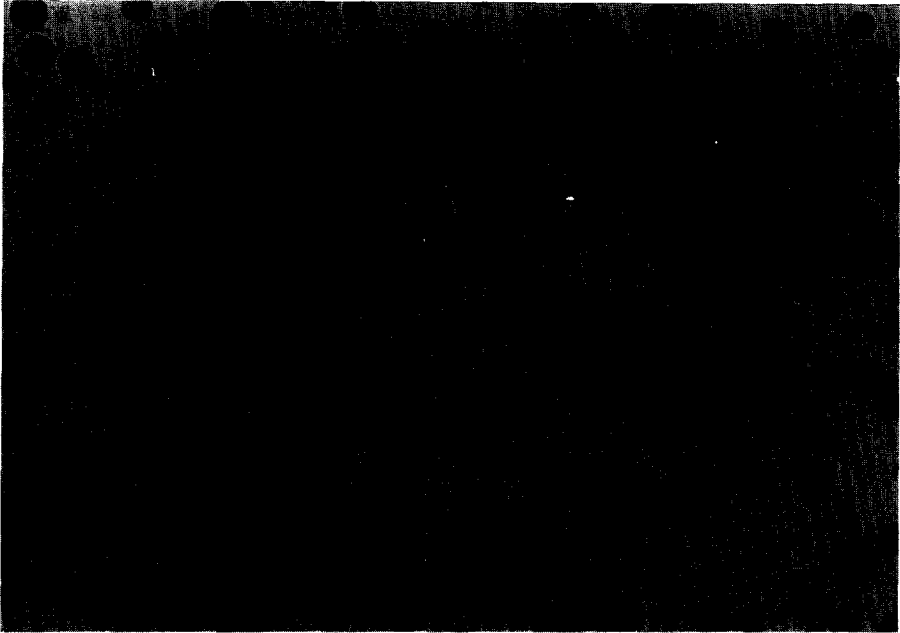


Fig 3. Blood smear from an untreated calf showing *Theileria sergenti* within red blood cells.

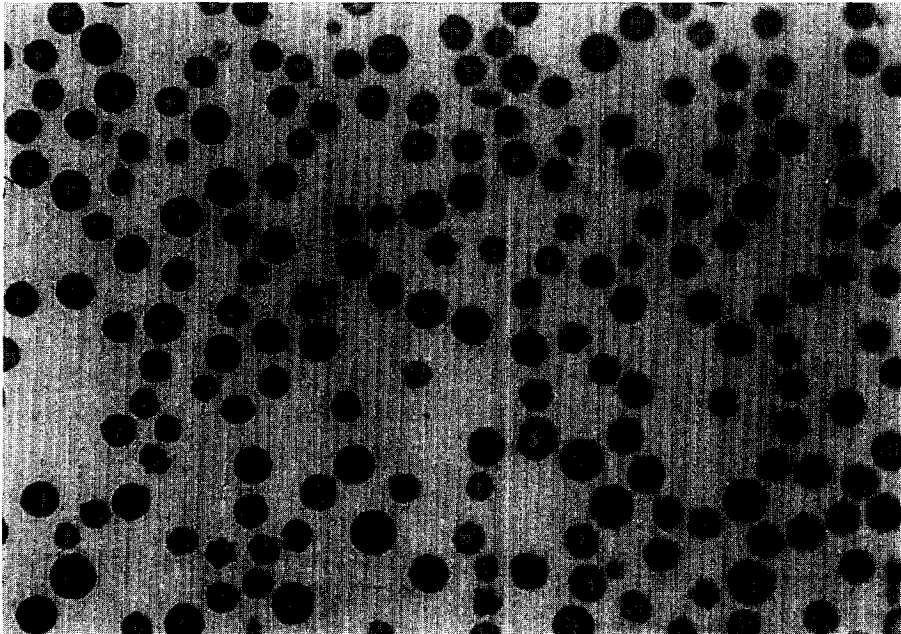


Fig 4. Blood smear 24 hours after buparvaquone treatment. *Theileria sergenti* was like dense-staining anaplasmod appearance.

나타나지 않았으며 치료 1일째부터 적혈구 내의 *T sergenti*의 핵이 농축되어(Fig 3, 4) 적혈구 내에서 점차 소실되어 군에 따라 4일째까지 사라졌다.

고 찰

리포솜은 단일 막 또는 여러 겹으로 이루어진 폐쇄된

인지질 小胞이며 약제의 운반기체로서 최근에 많은 연구가 이루어지고 있다. 리포솜은 형태와 용도에 따라 다양한 제조방법이 알려져 있으며 작은 단일 막(Small unilamella vesicle, SUV) 리포솜을 제조하는 방법으로도 probe sonication method, bath sonication method, French pressure cell method, membrane extrusion method 및 pH-induced vesiculation method 등 다양한 방법^{13,14}이 소개되었으나 본 연구에서는 French pressure cell 방법으로 리포솜을 제조하였다. 종래의 연구논문들은 대부분 체중이 적은 실험동물을 대상으로 하여 소량의 리포솜이 필요하였으나 본 연구에서는 체중 100kg 정도의 송아지를 대상으로 하였기 때문에 많은 양의 리포솜이 필요하여 대량제조가 가능한 French pressure cell 방법으로 제조하였다.

지용성 약제들은 리포솜 막에 혼합되기 때문에 대체로 높은 피포율을 보이며 수용성 약제들은 리포솜 막 내부의 공간에 피포되어 낮은 피포율을 나타낸다.⁷ 본 연구에서 사용한 buparvaquone은 지용성으로서 ECP 100mg에 20mg을 첨가할 때 피포율은 100%로 높은 피포율을 나타내었다.

본 연구에서는 *T. sergenti*의 인공감염을 위하여 5×10^8 개의 감염적혈구를 피하접종한 결과 접종후 16~23일에 순환혈액 내에서 원충이 관찰되어 Ohtomo 등¹⁵이 5.9×10^8 개의 감염적혈구를 피하접종한 결과, 접종후 16~22일에 처음 순환혈액 내에서 원충이 관찰되었다고 보고한 성적과 비슷하였으며 또 김 등¹⁶이 3×10^8 개의 감염적혈구를 피하접종하여 접종 후 20일에 순환혈액 내에서 원충을 처음 관찰하였다고 보고한 것과는 비슷한 성적이었다.

Buparvaquone은 적혈구 내의 원충과 임파구 내에 있는 번식체에도 유효한 것으로 *T. parva* 치료를 위하여 근육주사로 체중 kg당 2.5mg을 48시간 간격으로 2회 사용하도록 권장하고 있으나 *T. sergenti*에는 투여방법이 확립되지 않았다.

본 연구의 1群에서 근육주사용 buparvaquone(Butalex)을 2.5mg/kg, BW로 투여하였을 때 적혈구 감염율을 0.01% 수준까지는 저하시킬 수는 있었으나 완전히 제거하지는 못하였다. 그리고 2群에서 Butalex를 5.0mg/kg, BW로 투여하였을 때 투여 3일째에 적혈구 내에서 원충이 사라져 치료용량으로 5.0mg/kg, BW가 적당한 것으로 생각된다. 그러나 이 용량에서는 각각 28일과 30일째에 적혈구 내에 원충이 재출현하여 완치가 불가능한 것으로 나타났으며 이같은 성적은 일본의 *T. sergenti*로 Minami 등²이 연구한 성적과 비슷하였다. 그러나 3群에서 리포솜 피포성 buparvaquone을 2.5mg/kg,

BW로 정맥내 투여하였을 때 투여후 2~3일째에 적혈구 내에서 원충이 사라진 후 60일째까지 원충이 적혈구 내에 재출현하지 않아 1群의 근육주사용 Butalex보다 치료 효과가 뛰어났다. 이와같은 차이는 근육주사용 buparvaquone은 혈중으로 흡수된 후 혈중에는 높은 농도를 유지할 수 있지만 임파절에는 잘 확산이 되지 않아 완치가 불가능하며 작은 입자의 SUV 리포솜은 간질액으로 누출된 후 림프관을 거쳐 임파절의 세망내피계에 탐식되어, 림파절 내에 buparvaquone을 높은 농도로 확산시킬 수 있기 때문인 것으로 생각된다.

4群과 5群은 근육주사와 함께 리포솜 피포성 buparvaquone을 투여할 때 정맥주사 투여群과 복강과 피하주사 투여群의 치료효과를 비교한 것으로 정맥주사 투여群에서는 완치가 가능하였으나 복강과 피하주사群에서는 치료후 40일과 45일째에 적혈구 내에 원충이 재출현하여 완치되지 않았다. 이와같은 차이는 정맥주사 투여群에서는 리포솜 피포성 buparvaquone은 전신의 임파조직으로 확산이 가능하지만 복강과 피하조직 투여群에서는 국소로 투여한 리포솜 피포성 buparvaquone이 복강과 피하의 국소임파절에만 흡수^{9,10}되어 전신의 임파절로 확산이 되지 못하고 또 흡수가 서서히 이루어져 약제의 유효농도에 도달하지 못하여 완치를 시키지 못했던 것으로 생각된다.

본 연구에서 치료판정시 실험동물의 이용문제 때문에 약제투여 후 60일째까지 적혈구 내에 원충이 재출현하지 않으면 완치된 것으로 판정하였으나 비장적출을 실시하여 theileria의 감염여부를 보다 정확히 확인하는 것이 더 이상적인 방법으로 생각된다. Minami 등¹⁷은 *T. sergenti*를 인공감염시킨 비장적출 송아지의 임파절 생검조직의 임파구에서 *T. sergenti*의 번식체를 50%의 송아지에서 검출이 가능하였다고 보고하였으나 본 연구에서는 번식체의 검출이 불가능하여 치료후 임파절 내의 *T. sergenti*의 사멸을 확인하지 못하였다.

결 론

리포솜은 합성 소포로서 정맥으로 투여하면 빠르게 세망내피계의 탐식세포에 탐식되어 세포의 lysosome내에 정착하게되며 약리적으로 활성이 있는 약제를 리포솜에 피포시키면 약제를 단독으로 사용했을 때보다 세포내 기생성 감염병에 우수한 치료효과를 얻을 수 있다. 또 복강이나 피하로 적은 입자의 리포솜을 투여하면 국소임파절에도 효과적으로 약제를 분포시킬 수 있다.

Buparvaquone은 *Theileria sergenti*의 적내형 분열소체와 임파구 내의 번식체에 효과가 있는 것으로 알려졌지

만 다른 항타일레리아제제와 마찬가지로 원충을 완전히 구제하지는 못한다.

본 연구에서는 buparvaquone을 small unilamella vesicle 리포솜에 피포시켜 *T. sergenti*에 인공감염시킨 송아지에 투여하여 임파절 내에 높은 농도로 분포시켜 *T. sergenti*를 완치시키기 위하여 치료한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. French pressure cell 방법으로 small unilamella vesicle 리포솜을 제조한 결과 buparvaquone의 포획율은 100%이었고, 리포솜의 지름은 5~220nm이었으며 대부분이 10~50nm이었다.

2. 10두의 송아지에 *T. sergenti*에 감염된 5×10^8 개의 적혈구를 접종한 결과 접종 16~23일째에 적혈구 내에서 원충이 관찰되었다.

3. 근육주사용 buparvaquone을 체중 kg당 2.5mg을 투여하였을 때는 적혈구 내에서 *T. sergenti*가 완전히 제거되지 않았으며 체중 kg당 5.0mg을 투여하였을 때는 투여 3일째에 원충이 제거되었으나 치료후 28~30일째에 재출현하였다.

4. 리포솜 피포성 buparvaquone을 체중 kg당 2.5mg씩 정맥내로 투여한 결과 *T. sergenti* 감염이 완치되었다.

5. 리포솜 피포성 buparvaquone을 체중 kg당 2.5mg을 복강과 피하주사로 나누어 동시에 투여한 결과 *T. sergenti* 감염은 제거되지 않았다.

참 고 문 헌

- Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. Theileriosis. In : *Pathology of domestic animals Vol. 3. 3rd ed.* London : Academic Press Inc, 1985 ; 210~216.
- Minami T, Nakano T, Shimizu S, et al. Efficacy of naphthoquinones and imidocarb dipropionate on *Theileria sergenti* infection in splenectomized calves. *Jpn J Vet Sci* 1985 ; 47 : 297~300.
- 서명득, 장두환. 도입우의 진드기매개 주혈원충 감염상과 *Theileria sergenti*의 치료예방에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지 1982 ; 6 : 33~57.
- 전영. 한우의 바베시아와 다이레리라인충의 감염실태조사. 대한수의학회지 1978 ; 17 : 79~81.
- 한태우. 한국에 있어서 다이레리아병에 관한 연구. 농촌진흥청 농사시험연구보고(가축위생) 1978 ; 20 : 53~88.
- Mchardy N, Wekesa LS, Hudson AT, et al. Antitheatrical activity of BW 720C(buparvaquone) : a com-

parison with parvaquone. *Res in Vet Sci* 1985 ; 39 : 29~33.

- Cullis PR, Hope MJ, Bally MB, et al. Liposome as pharmaceuticals. In : Ostro MJ, ed. *Liposomes from biophysics to therapeutics.* New York and Basel : Marcel Dekker Inc, 1987 ; 39~72.
- Popescu MC, Swenson CE, Ginsberg RS. Liposome-mediated treatment of viral, bacterial and protozoal infections. In : Ostro MJ, ed. *Liposomes from biophysics to therapeutics.* New York and Basel : Marcel Dekker Inc, 1987 ; 219~251.
- Khato J, DelCampo AA, Sieber SM, et al. Carrier activity of sonicated small liposomes containing Melphalan to regional lymph nodes of rats. *Pharmacology* 1983 ; 26 : 230~240.
- Khato J, Priester ER, Sieber SM, et al. Enhanced lymph node uptake of Melphalan following liposomal entrapment and effects on lymph node metastasis in rats. *Cancer Treat Rep* 1982 ; 66 : 517~527.
- Alving CR, Steck EA, Chapman WL, et al. Therapy of leishmaniasis : Superior efficacies of liposome-encapsulated drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978 ; 75 : 2959~2963.
- Alving CR, Schneider I, Swartz GMJ, et al. Sporozoite-induced malaria : Therapeutic effects of glycolipids in liposomes. *Science* 1979 ; 205 : 1142~1144.
- Lelkes PI. French pressure cell liposomes. In : New RRC, ed. *Liposomes : a practical approach.* Oxford : IRL Press 1990 ; 49~52.
- New RRC. Preparation of liposomes. In : New RRC, ed. *Liposomes practical approach.* Oxford : IRL Press 1990 ; 33~104.
- Ohtomo M, Yamazaki K, Ito S, et al. Effects of Tetracarbin-A on bovine theileriosis in Japan. *Jpn J Vet Sci* 1985 ; 47 : 581~587.
- 김성하, 최희인, 이창우. 인공감염에 의한 송아지 theileria병 예방에 관한 임상적 관찰. 서울대학교 수의대 논문집 1984 ; 9 : 83~91.
- Minami T, Kawazu S, Shimura K, et al. Detection of the schizont stage in experimentally infected cattle with Japanese *Theileria sergenti*. *Jpn J Vet Sci* 1990 ; 52 : 601~604.