

가토 창상치유에 미치는 Yeast Glucan의 효과

박재현 · 권오경 · 남치주

서울대학교 수의과대학

서론

Glucan은 *Saccharomyces cerevisiae*의 세포벽성분인 β -(1 \rightarrow 3)-D-glycanase linkage²⁰⁾로서 강력한 macrophage 유주 촉진인자이며¹⁷⁾, 항암 및 면역보강제로서 뿐만 아니라 창상치유 촉진인자로서도 그 효능이 알려져 있다.³¹⁾

감염동물에 glucan을 투여하면 장기조직의 병리적 변화를 억제하고 생존율을 증가시킨다고 하였으며^{2,4,9)}, Glucan은 ⁶⁰Co방사선 조사로 손상된 비장과 골수세포의 회복을 촉진시켜 준다고 하였다.^{7,23-25)} Baba 등(1986)¹⁾은 Sarcoma 180(S-180)을 접종한 마우스에 glucan을 투여하면 Sarcoma 180의 수를 현저히 감소시킨다고 하였다.

Leibovich와 Ross¹⁷⁾에 의하면 macrophage는 탐식, 섬유화 및 섬유모세포 증식에 직·간접적으로 작용하므로 창상에서 macrophage를 제거하면 창상의 wound debridement가 극히 저조하고 섬유화가 현저히 지연된다고 하였다. 활성화된 macrophage는 공막의 혈관 신생을 촉진시킨다고 하였다.²⁶⁾ Browder 등⁵⁾은 macrophage는 창상의 신장강도를 증가시키며, 이는 macrophage가 분비하는 IL-1이 섬유모세포의 증생 및 아교섬유의 cross-linking를 증가시키기 때문이라고 하였다.

Yeast에서 추출한 수용성의 SRF(skin respiratory factor)가 창상부의 산소 소모율과 아교섬유의 합성을 촉진시킨다고 하였다.¹⁰⁾ Kaplan(1984)³¹⁾은 yeast 추출물인 LYCD(live yeast cell derivative)는 화상부의 완벽한 상피화, 혈관신생촉진, 산소소모율증가 그리고 아교섬유의 합성을 촉진한다고 하였다.

Wolk와 Danon(1985)³⁵⁾은 glucan에 의한 창상치유 촉진은 전신적인 작용에 의한 것이 아니라 국소적으로 macrophage의 활성화에 기인한다고 하였으나 Leibovich(1978)¹⁸⁾는 glucan이 세망내피계의 기능을 활성화시켜 국소 및 전신적으로 창상내의 macrophage 기능에 영향을 미치기 때문이라고 하였다. Kenyon과 Michaels(1982)¹⁵⁾은 glucan은 초기창상에 macrophage의 수를 증가시켜 섬유모세포반응이 상승되어 3일째의 창상 신장강도를 증가시키므로 창상의 치유를 촉진시킨다고 하였다.

Glucan을 이용한 지금까지의 창상치유에 관한 연구들은 glucan을 선형절개(linear incision) 후의 폐쇄창이나 수술창에만 적용하였으며, 실험동물은 mice나 rat에 국한되어 있다. 이에 토끼의 창상 특히 개방창에 미치는 glucan의 효과를 알아보고자 본 실험을 수행하였다

재료 및 방법

실험동물: 실험 I에서는 4주령, 체중 약 20kg의 ICR계 마우스 암컷 60두를 사용하였으며, 실험 II에서는 임상적으로 건상한 생후 6개월령, 체중 2~2.5kg의 뉴질랜드종의 백색토끼 18수를 사용하였다. 실험동물은 사료(Purina Co.)와 깨끗한 물을 자유급식시켰다.

Glucan의 분리 및 정제: Glucan은 Manners(1973)²⁰⁾의 방법에 따라 *Saccharomyces cerevisiae*에서 분리하였으며 그 방법은 다음과 같다.

Compressed yeast(제일화학(주)) 2kg에 6% NaOH 1.6L를 첨가하여 24시간 동안 교반한 후 증

류수 12L를 첨가하였다. 원심분리(1200G, 15분)하여 침전물을 수거하였으며 수거한 침전물에 3% NaOH 3L를 첨가하였다. 75°C에서 3시간 동안 가열한 후 실온에서 16시간 젖고, 증류수 3L를 첨가하고 원심분리(1200G, 15분)하여 침전물을 수거하였다. 수거한 침전물에 3% NaOH 3L 첨가한 후 HCl로 pH를 4.5로 조정하고 원심분리(1200G, 15분)하여 침전된 세포벽 물질을 수거하였다. 침전된 세포벽 물질은 물로 3회, ethanol로 1회, ether로 2회 세척한 후 건조시키면 처음 중량의 2.4%인 47.9g을 얻을 수 있다. 이렇게 얻은 물질에 0.5M acetic acid 2L를 첨가하고 90°C에서 3시간 동안 가열한 후 원심분리(1200G, 15분)하여 상층액을 NaOH로 중화, 투석 및 농축시켰다. 농축된 부피의 2배의 ethanol을 첨가하면 polysaccharide가 침전된다. 이 침전물을 수거하여 물로 3회, ethanol로 1회, ether로 2회 세척하고 37°C에서 건조시키면 약 2g의 glucan을 얻을 수 있다.

실험설계 : 실험 I에서는 마우스 복강내 glucan 투여후 복강삼출세포 및 복강삼출 macrophage의 반응을 알아보기 위하여 glucan을 5 μ g/ml, 50 μ g/ml, 500 μ g/ml 및 5,000 μ g/ml의 농도로 인산완충용액(PBS)에 희석하여 각각 0.5ml씩 복강에 투여하였으며, 투여 후 1, 3, 5 및 7일에 각 군당 3마리씩 도살하여 복강삼출세포수의 변화를 관찰하였다.

실험 II에서는 가토 창상치유에 미치는 효과를 알아보기 위하여 glucan을 PBS에 5,000 μ g/ml로 희석하여 창상유발후 2시간째 창상부에 1회, 약 0.5~1ml를 점적한 후 매일 PBS를 점적하였다. 다른 처치방법으로는 창상유발 후 glucan을 매일 창상부에 점적하였다. 각 처치당 창상의 수는 4개였다.

복강삼출세포 및 복강삼출 macrophage의 분리방법 : Glucan을 투여한 마우스를 시간경과에 따라 각 군당 3마리씩 ether 마취하에 도살시킨 후, 복강내에 4°C의 RPMI 1670배양액을 10ml씩 넣어 1분간 잘 맞사지 한 다음 10ml 주사기로 복강액을 회수하였다. 같은 군의 마우스로부터 회수한 복강액을 합하여 1500rpm에서 10분간 원심분리하였다. 다시 2회 원심분리하여 잘 세척한 다음 trypan blue exclusion법으로 세포생존율을 확인하고 혈구계산판으로 총 세포수를 계산하였다. 또한 복강액의 일

부를 cytospin에 의해 도말표본을 제작한 후 Wright-Giemsa염색을 하여 감별계산하였다.

창상유발 : 토끼 등쪽을 삭모하고 4개소 즉, 흉배부 양쪽과 요배부 양쪽에 1×1cm 크기의 피부를 전 적출하였다.

조직학적 관찰: 창상유발 후 1, 3, 5, 7 및 9일째 창상부의 면적을 측정한 후 적출하여 10% 중성 포르말린액으로 고정시켜 파라핀 포매한 후 조직절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin으로 염색하여 창상부의 상피재생의 정도, 혈관신생 그리고 macrophage와 중성호성백혈구의 출현정도를 관찰하였다.

창상부 면적측정 : 무작위로 설정한 창상부에 glucan을 1회 도포한 후 매일 PBS로 도포한 제 1군과, glucan을 매일 한번씩 도포한 제 2군을 각각 2시간과 1일후 그리고 이들 간격으로 9일째까지 창상부의 크기를 셀로판지에 그린 다음, 그 면적을 영상분석장치(Color Image Analyzer Q520, Cambridge Instrument, UK)로 측정하였다.

통계처리 : 창상유발후 2시간째의 창상크기를 기준으로 하여 연속률을 %로 나타내었으며 일수에 따른 변화를 분산분석하여 F-test로 검정하였다.

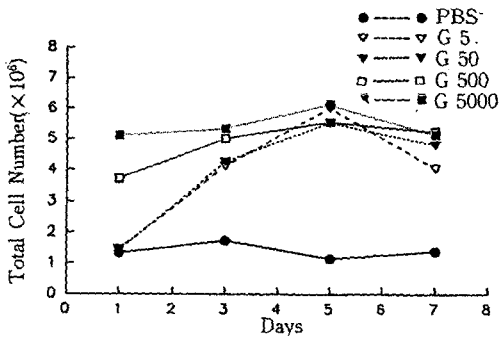
결 과

실험 I : Mouse 복강내로의 glucan 투여 효과 :

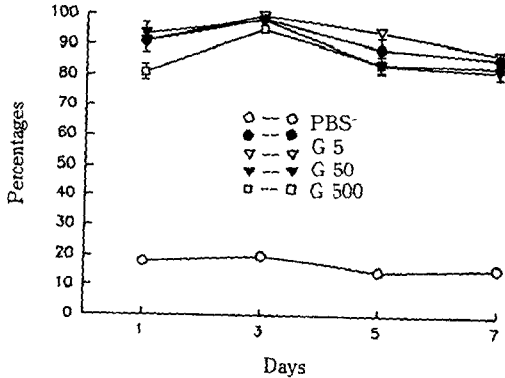
1)복강액 총세포수의 변화 : 복강 총세포수에 있어서 PBS를 투여한 대조군에서 1일부터 7일까지 변화는 거의 없었다. 그러나 glucan 5 μ g/ml과 50 μ g/ml을 투여한 군에서 1일째는 대조군과 비슷한 양상을 보이다가 5일째까지는 현저히 증가하였고, 5일을 정점으로 점차 감소하였다. 500 μ g/ml과 5,000 μ g/ml 투여군에서는 1일부터 대조군과 타군에 비하여 현저한 증가를 보이면서 5일까지 증가하다가 역시, 5일을 정점으로 점차 감소하였다.(Text-Fig. 1)

2)복강 삼출 macrophage수의 변화 : 감별계산에서 macrophage glucan 투여군에서 농도에 관계없이 3일째까지 유의적으로 증가하였으나 3일을 정점으로 점차 감소하는 양상을 보였다(Text-Fig. 2).

실험 II : 가토 창상부에 glucan의 점적효과 :



Text-Fig. 1. Total cell numbers in the peritoneal fluid of mice injected intraperitoneally with glucan.



Text-Fig. 2. Percentages of macrophages in the peritoneal total cells in mice injected intraperitoneally with glucan.

1)창상부의 조직소견 : Glucan 처치군에서는 뚜렷한 창상 치유효과가 관찰되었다. 창상유발 1일째의 대조군의 창상부위는 두꺼운 가피에 의해 덮혀 있었으며 그 가피의 하부에는 출혈, fibrin의 matrix 및 고도의 중성호성백혈구 침윤이 관찰되었고, 그 심부에도 역시 뚜렷한 중성호성백혈구 침윤이 관찰되었다. 그러나 glucan 5,000 μ g/ml 처치군의 가피하부에는 중성호성백혈구 침윤이, 보다 심부에는 많은 macrophage, 약간의 중성호성백혈구 및 섬유모세포가 관찰되었으나 그밖의 소견에 있어 두 군 사이에 뚜렷한 차이는 인정되지 않았다.

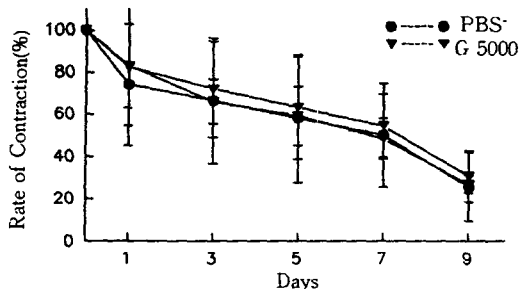
창상유발 3일째의 대조군 창상의 가피하부에는 상피의 재생화는 관찰되지 않았고 출혈, fibrin의 matrix 및 다수의 중성호성백혈구, macrophage 및

섬유모세포의 경도의 증식이 관찰되었다(Fig 1A, 2). 그러나 glucan 5,000 μ g/ml 처치군의 소견은 대조군과는 달리 창상가피하부에는 아직 완전하지는 않으나 활발한 상피의 회복이 일어나고 있었으며 창상주변부 또는 기저부에는 많은 macrophage 와 대조군에 비해서 소수의 중성호성백혈구 및 뚜렷한 섬유모세포의 증식이 관찰되었다(Fig. 1B, 3).

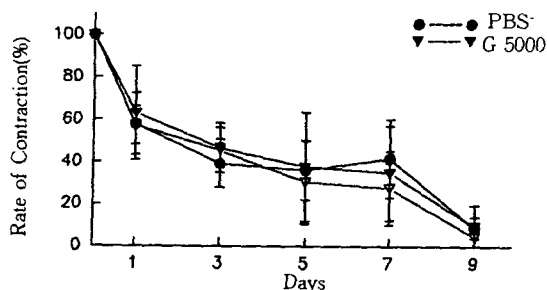
창상유발 5일째의 대조군의 조직학적 소견은 3일째 glucan의 소견과 유사하였다. 창상부위는 아직도 가피에 의해 피복되어 있었고, 재생화된 상피는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 4A, 5). 또한 가피하부에는 다수의 중성호성백혈구의 침윤이, 창상주변부 및 기저부의 결합조직내에는 활발한 섬유모세포의 증식이, 그리고 창상의 중앙부에는 활발한 상피의 이주와 함께 중성호성백혈구와 소수의 macrophage가 관찰되었다. 그러나 glucan 5,000 μ g/ml 처치군에서는 대조군에 비하여 뚜렷한 창상치유가 관찰되었다. 창상부위의 대부분은 새롭게 신생된 상피에 의해 피복되었으며 창상하부에는 섬유모세포의 활발한 증식과 아교섬유의 증식비후에 따라 치밀결합조직상을 나타내고 대조군보다 적은 수의 중성호성백혈구가 관찰되었다(Fig. 4B, 6). 또한 macrophage의 세포질내에는 glucan양의 과립이 산재되고 육아조직화에 따른 활발한 혈관의 신생과 함께 새롭게 재생되고 있는 조직에 평행한 섬유모세포의 증식상이 관찰되었다.

창상유발 후 7일째의 대조군의 조직학적 소견은 5일째의 glucan 처치군의 소견과 유사하게 관찰되었다. 창상부위의 대부분은 재생된 상피에 의해 피복되어 있었으나 그 하부에는 아직도 중성호성백혈구 및 세포괴가 관찰되고 뚜렷한 섬유모세포의 증식 및 아교섬유의 증식비후에 따라 치밀결합조직상을 나타내고, 활발한 혈관의 신생, 재생된 상피에 평행한 섬유모세포의 활발한 증식상이 관찰되었다(Fig. 7A). 그러나 glucan 처치군에서는 대조군보다 더욱 진행되어 섬유모세포의 재 기질화가 일어나고 창상부위의 섬유모세포의 수와 양에 있어서 뚜렷한 감소가 관찰되고, 이미 회복된 창상부위의 대부분의 결합조직은 아교섬유로 충만되었다(Fig. 7B).

창상유발 9일째의 대조군이 창상부위의 가피는 거의 탈락하고 새롭게 재생된 상피에 의해 피복되고 그 하부에는 아직도 중성호성백혈구가 산재되었



Text-Fig. 3. The rate of wound contraction in rabbits with one topical application of glucan.



Text-Fig. 4. The rate of wound contraction in rabbits with everyday topical application of glucan.

으나, glucan 5,000 $\mu\text{g/ml}$ 처치군에는 이러한 소견이 관찰되지 않았다.

2) 창상연축 : 창상유발 후 2시간째에 glucan을 한번 처치한 후 매일 PBS를 처치한 경우의 창상연축율은 Text-Fig. 3에 표시하였다. 대조군에 있어서의 창상연축율은 1일째 $57.9 \pm 14.0\%$, 3일째 $39.2 \pm 11.0\%$, 5일째 $36.0 \pm 14.0\%$, 7일째 $41.7 \pm 18.0\%$ 그리고 9일째에 $8.7 \pm 5.0\%$ 를 나타내었다.

Glucan을 1회만 처치한 경우와 매일 처치한 경우 (Text-Fig. 4) 모두 대조군과 유사한 경향의 연축이 이루어졌으며 대조군과의 연축율의 차이를 인정할 수 없었다. Glucan 처치군 사이에는 매일 처치군이 1회처치군 보다 연축율이 약간 증가되는 경향을 보였다.

고 찰

Glucan은 *Saccharomyces cerevisiae*의 세포벽 물질로써 β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan과 β -(1 \rightarrow 6)-D-glucan이 있으며, 존재비율은 85 : 15이다.^{8, 20)} β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan은 고분자 다당체이며,²⁰⁾ 입자는 최대 직경 3~4 μm 로서 macrophage에 탐식되어²¹⁾ 용해되면서 세망내피계(RES)를 활성화시키게 된다.^{8, 28)} Glucan은 BRM(biological response modifier)³⁰⁾, 강력한 면역 촉진물질^{27, 30, 31)}, 면역조절인자²⁴⁾, RES 촉진인자⁷⁾ 등으로 알려져 있다. 여러 연구에서 실험적인 세균감염^{2-4, 9, 16, 22, 32)}, 기생충감염^{29, 34)}, 종양질환^{1, 11, 14, 31)}, 각종의 면역억제 상태⁹⁾ 그리고 조절작용²³⁻²⁵⁾에 다양한 효과가 인정되고 있다. 특히 glucan은 강력한 macrophage 유주 촉진인자로서 macrophage를 창상부로 신속히 유입시켜서^{3, 6, 7, 28)} 초기 창상치유를 촉진한다.^{5, 10, 13, 19, 35)}

본 실험에서 glucan을 투여한 마우스에 있어서 복강총세포수와 복강삼출 macrophage 수는 투여 7일째 까지도 대조군보다는 유의적으로 증가된 상태를 유지하였다. 복강 총세포수는 투여후 5일까지, macrophage의 수는 대조군과 비교하여 투여후 3일까지 각각 증가하다가 점차 감소하였다. Burgaleta와 Golde(1977)¹⁾는 glucan이 granulocyte-macrophage progenitor cells과 macrophage genesis에 미치는 영향에 대한 연구에서 glucan 투여군은 복강액 총세포수가 지속적으로 증가하였고, macrophage와 macrophage-forming cell의 수도 대조군보다 2~3년 증가하였으며, 비장과 골수의 macrophage 수도 대조군보다 2~3배 증가시키므로 glucan은 강력한 macrophage 유주 촉진 인자라고 하였다.

창상부의 조직소견에서는 대조군에 비하여 창상치유 초기에 macrophage의 유주가 활발하였다. 창상유발 후 3일째에는 대조군보다 신속하게 섬유모세포나 아교세포 합성 및 모세혈관의 신생이 뚜렷하게 관찰되어, 초기 창상치유가 활발히 이루어지고 있음을 알 수 있었다. 이와같은 결과는 mouse의 폐쇄창에서 관찰된 조직소견과 유사하였다.³⁵⁾

Kaplan(1984)¹³⁾은 화상을 입은 환자에 glucan을 처치하여 신속한 혈관신생으로 상피화가 촉진된다고 하였다. Polverini 등(1977)²⁶⁾은 glucan이 국소 처치로 신속한 상피화, 혈관신생, 아교세포 합성을 증가시킨다고 하였다. Browder 등(1988)³¹⁾은 glucan 처치군의 신장강도가 258% 증가하였는데 이러한 결과는 glucan에 의해 활성화된 macrophage가 아

교섭유의 cross linking을 증가시키기 때문이라고 하였다. Leibovich와 Ross(1975)¹¹⁾는 hydrocirtisone과 antimacrophage serum을 병용투여하여 창상에서 macrophage의 역할을 관찰한 연구에서, macrophage가 제거된 창상은 debridement와 아교섭유 합성이 현저히 지연되는 것으로 보아 macrophage는 초기 창상치유에 중요한 역할을 담당한다고 하였다. Hunt 등(1984)¹²⁾은 창상이 일어나면 모세혈관의 파열로 혈소판이 축적, 활성화되어 혈액이 응고되며, 조직의 파열로 보체와 kinin cascade가 활성화된다고 하였다. 이때 혈소판이 창상부로 유입되면서 macrophage가 창상부로 유입되어 창연으로부터 창상부로의 섬유모세포 이주와 모세혈관 신생을 촉진하게 된다고 하였다. Takashima와 Grinnell(1985)¹³⁾은 활성화된 macrophage는 fibronectin을 생산하는데 이 fibronectin은 상피의 이주를 촉진시키며 창상 신장강도를 증가시킨다고 하였다. Goodson(1976)¹⁴⁾은 yeast 세포벽 물질인 "Skin Respiratory Factor"로써 cytochrome oxidase와 다른 cyanide-sensitive oxygen-consuming enzyme를 촉진하는 인자라고 하였으며 섬유모세포, 아교섭유 합성을 촉진시킨다고 하였다.

본 실험에서 glucan 투여군의 3일째의 조직소견은 섬유모세포의 활발한 이주와 다량의 macrophage 침착이 관찰되었으나 아직 완전한 상피의 이주는 이루어지지 않았다. 이러한 결과는 Leibovich와 Danon(1982)¹⁵⁾의 결과와 유사하였다. Leibovich와 Danon((1982)¹⁶⁾은 glucan의 창상치유효과는 glucan이 RES의 기능을 증가시키고 macrophage를 활성화시켜 국소 및 전신적으로 영향을 미치기 때문이라고 하였다. Kaplan(1984)¹⁷⁾ LYCD(live yeast cell derivative)는 상피화와 혈관신생을 촉진시켜 창상치유를 촉진시킨다고 하였다. 이는 신속한 모세혈관의 개통이 창상부로의 신속한 산소와 영양소의 공급을 가능하게 하기 때문이라고 하였다.

Wolk와 Danon(1985)¹⁸⁾은 glucan이 창상치유를 촉진시키는데 특히 창상치유시간을 마우스에서 17%(males)~20%(female) 단축시키는 효과가 있다고 하였다. 이러한 결과는 glucan에 의해 활성화된 macrophage가 재상피화와 섬유모세포의 증식과 이주를 촉진시키기 때문이며 性간의 차이는 male sex hormone 때문이라고 하였다. Kenyon과

Michaels(1982)¹⁹⁾는 glucan은 섬유모세포반응을 증가시키고 창상의 신장강도를 증가시켜서 창상연축을 증가시키며, macrophage의 탐식율이 증가된다고 하였다. 그리고 창상의 감염은 창상치유지연의 가장 주요한 이유라고 하였다. 그러나 본 실험에서는 glucan 처치군에서의 창상연축이 대조군의 그것과 유의적인 차이를 인정할 수 없었다. 임 등(1992)²⁰⁾은 창상연축율에 있어서 생리식염수가 chlorhexidine gluconate 및 povidine iodine보다 높은 경향을 보이며 14일째의 연축율은 유의차가 인정되지 않았다고 하였다. 권(1993)²⁶⁾은 생리식염수가 몇가지 시판 항균연고제보다 창상연축율에 있어서 유의적인 증가를 보인다고 하였다. Glucan은 소독제와 항균연고제 도포에서 볼 수 있는 창상연축지연을 일으키지는 않았으나 창상연축을 촉진시키는 효과는 인정할 수 없었다.

이상의 결과로 보아 glucan은 창상부로 macrophage를 유도하는 기능이 우수하고 혈관신생 및 섬유모세포 이주를 활발하게 하여 가토창상치유를 촉진시키는 것으로 사료된다.

결론

Glucan을 5, 50, 500 및 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 희석하여 마우스 복강내에 투여하여 총세포수 및 macrophage의 수를 조사하였고, 토기의 개방창에 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도의 glucan을 도포하여 창상부의 조직소견과 창상연축 정도를 관찰하였다.

1. 마우스 복강의 macrophage의 수는 모든 처치군에서 7일째까지 대조군보다 유의적으로 높은 수준을 유지하였고, 3일째에 최고치를 나타내었다.

2. 가토의 조직소견에서 3일째에는 대조군에 비하여 glucan 처치군에서 많은 macrophage가 출현하였고, 섬유모세포의 증식상이 창상주변부와 기저부에 뚜렷이 관찰되었고, 창상부위를 가로질러서 활발히 이주하는 상피세포도 관찰되었다. 5일째에는 macrophage의 세포질 내에 glucan양의 과립이 산재하였고, 창상부위의 대부분이 새롭게 신생된 상피에 의해 피복되었으며 육아조직화가 진행됨에 따라 혈관신생과 함께 섬유모세포의 활발한 증식상이 관찰되었다.

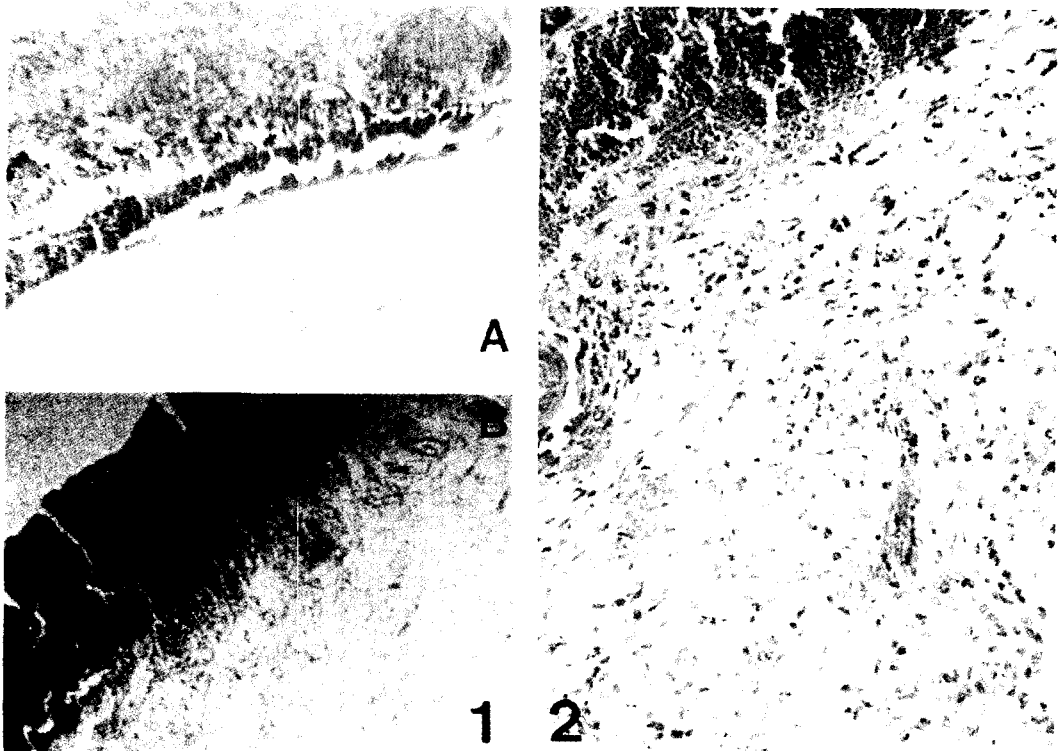
3. 창상의 연축율은 glucan 처치군과 대조군 사이에 차이를 인정할 수 없었다.

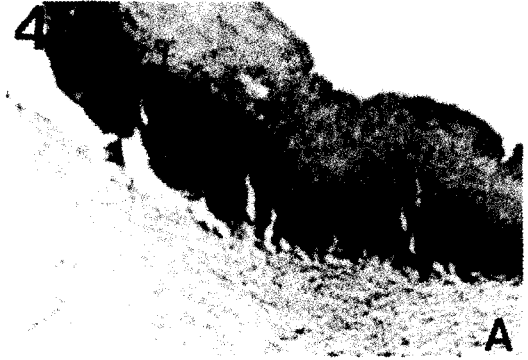
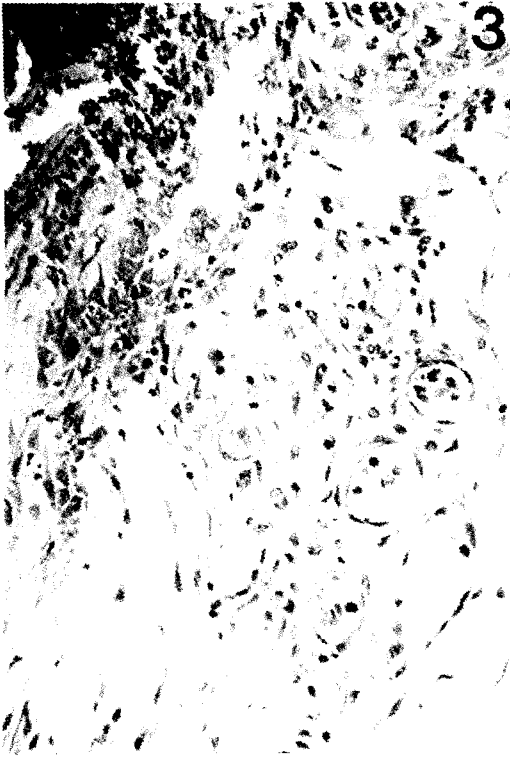
이상의 결과로 보아 창상에 glucan의 처치는 창상부로의 macrophage의 유주와 그로 인한 조속한 혈관 신생, 섬유모세포의 이주 및 상피의 재생을

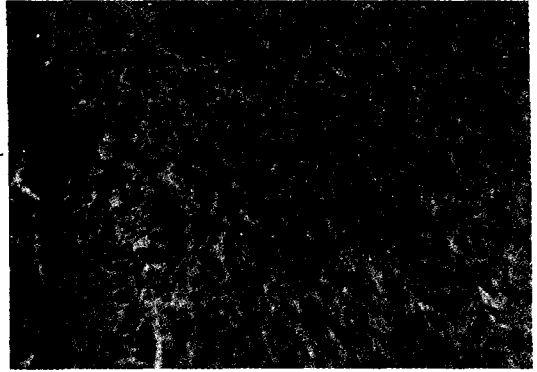
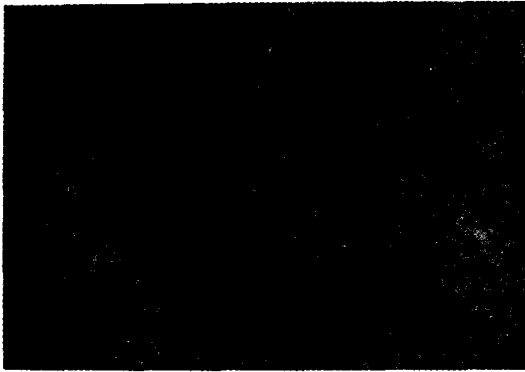
유도하여 신속하고 완벽한 창상의 치유효과를 기대할 수 있다고 사료된다.

Legend for Figures

- Fig. 1.** Light micrographs of wounds treated with PBS(A) and 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of glucan(B) 3 days after wounding.(H & E staining, $\times 200$).
- Fig. 2.** Light micrographs of wounds treated with PBS 3 days after wounding(H & E staining, $\times 400$).
- Fig. 3.** Light micrographs of wounds treated with 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of glucan 3 days after wounding.(H & E staining, $\times 400$).
- Fig. 4.** Light micrographs of wounds treated with PBS(A) and 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of glucan(B) 5 days after wounding(H & E staining, $\times 200$).
- Fig. 5.** Light micrographs of wounds treated with PBS 5 days after wounding(H & E staining, $\times 400$).
- Fig. 6.** Light micrographs of wounds treated with 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of glucan 5 days after wounding.(H & E staining, $\times 400$).
- Fig. 7.** Light micrographs of wounds treated with PBS(A) and 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of glucan(B) 7 days after wounding.(H & E staining, $\times 200$).







참 고 문 헌

1. Baba, H., Kunimoto, T. and Nitta, K. : Rapid tumor regression and induction of tumor regression activity in serum by various immune-modulating agent. *Int. J. Immunopharmac.*(1986) 8 : 569~572.
2. Browder, I.W., Williams, D.L., Kitahama, A. and Di Luzio, N.R. : Modification of post-operative *C. Albicans* sepsis by glucan immunostimulation. *Int. J. Immunopharmac.*(1984) 6 : 19~26.
3. Browder, I.W., Sherwood, E., Williams, D., Jones, E., McNamee, R. and Di Luzio, N. : Protective effect of glucan-enhanced macrophage function in experiment pancreatitis. *Am. J. Surg.*(1987a) 153 : 25~33.
4. Browder, W., Williams, D., Sherwood, E., McNamee, R., Jones, E. and Di Luzio, N. R. : Synergistic effect of nonspecific immunostimulation and antibiotics in experimental peritonitis. *Surgery.*(1987b) 102 : 206~214.
5. Browder, W., Williams, D., Lucore, P., Pretus, H., Jones, E. and McName, R. : Effect of enhanced macrophage function on early wound healing. *Surgery.*(1988) 104 : 224~230.
6. Browder, W., Williams D., Pretus, H., Olivero, G., Enrichens, F., Mao, P. and Franchello, A. : Beneficial effect of enhanced macrophage function in the trauma patient. *Ann. Surg.*(1990) 211 : 605~612.
7. Burgaleta, C. and Golde, D.W. : Effect of glucan on granulopoiesis and macrophage genesis in mice. *Cancer Res.*(1977) 37 : 1739~1742.
8. Di Cario, F.J. and Fiore, J.V. : On the composition of zymosan . *Science.*(1958) 127 : 127~128.
9. Di Luzio, N.R. and Williams, D.L. : Protective effect of glucan against systemic *Staphylococcus aureus* septicemia in normal and leukemic mice. *Infect. Immun.*(1978) 20 : 804~815.
10. Goodson, W., Hohn, D., Hunt, T.K. and Leung, D.Y.K. : Augmentation of some aspects of wound healing by a "Skin Respiratory Factor". *J. Sur. Res.*(1976) 21 : 125~129.
11. Gorecka-Tisera, A., Proctor, J.W., Yamamura, Y., Harnaha, J. and Meinert, K. : Dose, route, time dependence of serum lysozyme and anti-tumor activity following administration of glucan, *Corynebacterium parvum*, pyran, or Lipopolysaccharide to mice. *JNCI.*(1981) 97 : 911~915.
12. Hunt, T.K., Knighton, D.R., Thakral, K.K., Goodson, W.H. and Andrews, W.S. : Studies on inflammation and wound healing : Angiogenesis and collagen synthesis stimulated *in vivo* by resident and activated wound macrophages. *Surgery.*(1984) 96 : 48~52.

13. Kaplan, J.Z. : Acceleration of wound healing by a live yeast cell derivative. Arch Surg.(1984) 119 : 1005~1008.
14. Keller, R. : Cytostatic elimination of synergenic rat tumor cells in vitro by nonspecifically activated macrophages. J. Exp. Med.(1973) 138 : 625~644.
15. Kenyon, A.J. and Michaels, E.B. : Modulation of early cellular events in wound healing in mice. Am. J. Vet. Res.(1982) 44 : 340~343.
16. Kokoshis, P.L., Williams, D.L., Cook, J.A. and Di Luzio, N.R. : Increased resistance to *Staphylococcus aureus* infection and enhancement in serum Lysozyme activity by glucan. Science.(1978) 199 : 1340~1342.
17. Leibovich, S.J. and Ross, R. : The role the macrophage in wound repair. Am. J. Pathol.(1975) 78 : 71~99.
18. Leibovich, S.J. : Production of macrophage-dependent fibroblast-stimulating activity(M-FSA) by murine macrophage. Exp. Cell. Res.(1978) 113 : 47~56.
19. Leibovich, S.J. and Danon, D. : Promotion of wound repair in mice by application of glucan. J. Reticuloendothel. Soc.(1982) 27 : 1~11.
20. Manners, D.J., Masson, A.J. and Pattison, J.C. : The structure of a β -(1-3)-D-Glucan from yeast cell walls. Biochem. J.(1973) 135 : 19~30.
21. Mansell, W.A., Ichinose, H., Reed, R.J., Kremnitz, E.J., McNamee, R. and Di Luzio, N.R. : Macrophage-mediated destruction malignant cell *in vivo*. J. Natl. Cancer Inst.(1975) 54 : 571~580.
22. Obaid, K.A., Khan, H.M. Mahdi, A.A. and Khanna, R. : Protective effect of *L. Donovanii* antigens using glucan as an adjuvant. Int. J. Immunopharmac.(1989) 11 : 229~235.
23. Patchen, M.L. and Macvittie, T.J. : Stimulated hematopoiesis and enhanced survival following glucan treatment in sublethally and lethally irradiated mice. Int. J. Immunopharmac.(1985)7 : 923~932.
24. Patchen, M.L., Macvittie, T.J., Solberg, B.D. and Souza, L.M. : Survival enhancement and hemopoietic regeneration following radiation exposure : Therapeutic approach using glucan and granulocyte colony-stimulating factor. Exp. Hematol.(1990a) 18 : 1042~1048.
25. Patchen, M.L., Macvittie, T.J. and Weiss, J.F. : Combined modality radioprotection : The use of glucan and selenium with WR-2721. Int. J. Rad. Onco. Biol.(1990b) 18 : 1069~1075.
26. Polverini, P.J., Cotran, R.S., Gimbrone, Jr. M.A. and Unanue, E.R. : Activated macrophage induce vascular proliferation. Nature.(1977) 289 : 804~806.
27. Pretus, H.A., Browder, I.W., Lucore, P., McNamée, R.B., Jones, E.L. and Williams, D.L. : Macrophage activation decrease macrophage prostaglandin E₂ release in experimental trauma. J. Trauma.(1989) 29 : 1152~1157.
28. Riggi, S.J. and Di Luzio, N.R. : Identification of a reticuloendothelial stimulating agents in zymosan. Am. J. Physiol.(1961) 200 : 297~300.
29. Sharma, A., Haq, A.U., Siddiqui, M.U. and Ahmad, S. : Immunization of guinea pigs against *Entamoeba histolytica* using glucan as an adjuvant. Int. J. Immunopharmac.(1984) 6 : 483~491.
30. Takashima, A. and Grinnell, F. : Fibronectin-mediated keratinocyte migration and initiation of fibronectin receptor function *in vitro*. J. Invest. Dermatol.(1985) 85 : 304~308.
31. Thompson, I., Spene, C.R., Lamm, D. and Di Luzio, N.R. : Immunotherapy of bladder carcinoma with glucan and cyclophosphamide. Am. J. Med. Scie.(1987) 294 : 294~30.
32. Williams, K.I., Browder, I.W. and Di Luzio, N.R. : Immunotherapeutic modification of *Escherichia coli*-induced experimental peritonitis and bacteremia by glucan. Surgery.(1983) 93 : 448~454.
33. Williams, D.L., Hohn, D., Hunt, T.K. and Leung, D.Y.K. : Pre-clinical safety of soluble

- glucan. Int. J. Immunopharmac.(1988) 10 : 405~414.
34. Williams, D.L., Yaeger, R.G., Pretus, H.A., Browder, I.W., McNamee, R.B. and Jones, E.L. : Immunozation Trypanosoma cruzi : adjuvant effect of glucan. Int. J. Immunopharmac.(1989) 11 : 403~410.
35. Wolk, M. and Danon, D. : Promotion of wound healing by yeast glucan evaluated on single animals. Med. Bio.(1985) 63 : 73~80.
36. 권오경 : 가토창상에 대한 항균연고제의 효과. 한국임상수의학회지. (1993) 10 : 55~60.
37. 임성준, 권오경, 장광호 : Chlorhexidine Glucanate 및 가토의 창상치유에 미치는 효과. 한국임상수의학회지. (1992) 9 : 17~22.

Effect of Yeast Glucan on Wound Healing in Rabbits

Jae-Heoun Park, D.V.M., M.S., Oh-Kyeong Kweon, D.V.M., Ph.D. and

Tchi-Chu Nam, D.V.M., Ph.D.

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Abstract

To investigate the effect of yeast glucan on wound healing in rabbits, histopathological findings and wound contraction after topical application of glucan on the open wound were observed.

Formalin fixation and embedding of tissues at wound were prepared for histopathological findings at the other day after wounding. Wound size was measured for contraction.

Macrophages appeared in the deeper site under the scab at day 1 after wounding in the glucan treated group, but not in the control. A number of macrophages, fibroblasts and a small number of neutrophils were observed at day 3 after wounding in the glucan treated group as compared with the control. Histopathological findings at day 5 after wounding in control were similar with those at day 3 in the glucan treated group. Glucan like granules were scattered in the cytoplasm of macrophages at day 5 in the glucan treated group. A great portion of wound reepithelialized at day 5 in the glucan treated group but a small portion of wound in the control.

The present study indicated that the treatment of $5,000 \mu\text{g/ml}$ of glucan has an effect on wound healing in respect to migration of macrophage into the wound site, granulation tissue formation and epithelialization.