

## 흰쥐에서 식이 단백질 수준이 수유를 통한 수동면역에 미치는 영향

김화영 · 홍경희 · 김순미\* · 김지윤

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과  
경기전문대학 식품영양학과\*

### Effect of Dietary Protein Level on Immune Substances in Milk and its Transfer to Pups in Rats

Kim, Wha Young · Hong, Kyung Hee · Kim, Soon Mi\* · Kim, Ji Yoon

Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul, Korea  
Department of Food and Nutrition,\* Kyungki Junior College, Incheon, Korea

#### ABSTRACT

This study was performed to determine the effect of maternal protein intake on 1) the concentration of immune substances in milk 2) degree of passive immunity to pups via lactation, and 3) specific antibody production to a specific antigen,  $\beta$ -lactoglobulin(BLG). 4) the effect of passive immunity that pups received from mother during lactation on the production of antibodies when the pups were challenged to the same antigen. Part of the female rats were immunized with BLG before and during pregnancy. The pregnant rats were placed into either 25% or 10% isolated soy protein diet throughout gestation and lactation. After weaning, pups from each group continued to be fed the same diet. At 18 weeks of age, all the pups were challenged with BLG. Total IgA and IgG, lysozyme, BLG-specific IgA and IgG were measured in dam's serum, dam's milk, and pup's serum. Total IgG, and lysozyme in dam's serum and milk were higher in high protein group. Total IgA and IgG in pup's serum remained higher in high protein group from 5 to 18 weeks of age. BLG-specific antibodies were found in the milk and serum of immunized dams, and in serum of pups born to immunized dams but not in the non-immunized group. BLG-specific IgA and IgG were again higher in high protein group and declined with time. The concentration decreased faster in the low protein group than in the high protein group. After immunization the pups with BLG, serum BLG-specific antibodies were not differ between rats born to immunized dams and those born to non-immunized dams. Therefore passive immunity rats received via milk as a pup had no effect on the BLG-specific antibody production later in life. This study shows the importance of protein status of mother and strongly support to the endorsement of breast feeding. (*Korean J Nutrition* 29(6) : 569~577, 1996)

**KEY WORDS** : dietary protein · IgA · IgG · lysozyme · lactation · passive immunization.

채택일 : 1996년 5월 8일

## 서 론

영양 상태가 불량한 사람들은 면역 기능이 저하되어 질병에 대한 감염률과 사망률이 높고, 특히 단백질 결핍과 단백질-에너지 결핍(PCM)은 면역체계에 큰 영향을 미친다고 보고되고 있다<sup>1)2)</sup>. 단백질 결핍이나 PCM 일 때는 면역 기관의 무게가 저하되고, 면역 세포의 수가 감소하며, 식균 작용과 세포 매개성 면역에 손상을 가져온다. 또한, 체액성 면역에도 영향을 미쳐 항체의 친화력과 항체 생성, 특히 sIgA(secretory IgA) 농도가 감소한다<sup>2)3)</sup>.

임신기와 수유기의 단백질 및 에너지 결핍은 모유의 면역 물질함량에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다<sup>4)7)</sup>. 모유의 면역 물질은 수유를 통하여 아기에게로 이행되어 아기의 면역기능에 영향을 주기 때문에 그 중요성이 강조되고 있다. 모유로 양육된 아이들은 발병율과 사망률이 인공 영양아에 비하여 낮다는 것이 알려져 있고, 이것은 모체가 노출된 적이 있었던 항원들에 대한 항체가 모유를 통해 아기에게 이행되어 면역기능을 담당하기 때문에 사료된다<sup>8-10)</sup>. 따라서 모체의 영양 상태가 모체의 면역 기능에 영향을 미친다면 그 결과 모유의 면역 물질 함량에 영향을 미쳐 아기의 면역과 건강에 영향을 줄 것으로 볼 수 있다.

모유의 성분 중 면역 능력을 갖는 물질은 macrophages, leukocytes, lymphocytes 등의 면역세포와 모체가 감염된 적이 있었던 항원들에 대한 항체들과 항원 비특이적인 물질로서 lysozyme, complement, lactoferrin, interferon 등의 soluble factor가 있다<sup>11)</sup>. 영양 상태가 모유의 면역 물질 함량에 미치는 영향에 대해서는 상반된 결과들이 발표되고 있다. Miranda 등<sup>4)</sup>은 영양 불량인 수유부의 모유에서 IgA, IgG와 C<sub>4</sub>는 정상 수유부보다 낮았으나 IgM, lysozyme 및 C<sub>3</sub>는 감소하지 않았다고 한 반면, Chang 등<sup>5)</sup> 영양 불량인 수유부의 모유중 IgA, lysozyme 및 C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> 함량이 정상 수유부의 50%정도 밖에 되지 않음을 보고했고, 김화영 등은<sup>6)</sup> 모유의 면역 물질 함량은 임신전 BMI와 임신중 체중 증가의 영향을 받아 임신부의 영양상태와 모유의 면역물질 함량과는 관련이 있는 것으로 보고하였다. 그러나 모유의 sIgA, IgA, IgG, IgM, lysozyme, lactoferrin 등을 조사한 결과 수유부의 영양상태에 영향을 받지 않는 것으로 보고되기도 하였다<sup>12)13)</sup>. 영양상태와 유즙의 면역물질 함량에 대한 동물실험 결과 Michalek 등<sup>7)</sup>은 어미쥐의 식이 단백질 결핍이 유즙과 새끼쥐 혈청의 IgG 감소를 가져왔음을 보고하였고, Chandra<sup>14)</sup>는 어미쥐의 열량 섭취량을 제한하였을 경우 새끼쥐(F1)와 그 다음 세

대의 새끼쥐(F2)에서 항체 생성 세포가 감소하였음을 보고하였다.

그러나 면역기능의 측면에서 모유의 중요성을 이해하기 위해서는 자료가 부족하고 새끼의 면역기능 중 수유가 담당하는 비중을 고찰한 연구나 모유를 통한 수동면역이 새끼가 성장한 후에 미치는 영향을 조사한 연구는 찾아 보기 힘들다. 따라서, 본 연구에서는 임신 및 수유기의 단백질 영양상태가 어미쥐의 혈청과 유정내 면역 물질 함량에 미치는 영향과, 유즙내 면역 물질의 새끼쥐로의 이행 정도를 조사하였고 또한 수유를 통한 새끼로의 수동면역이 새끼가 성장한 후 같은 항원에 대한 항체 생성에 미치는 영향을 살펴보았다. 이러한 목적을 위하여  $\beta$ -lactoglobulin(BLG)을 항원으로 이용하였는데 BLG는 쥐에서 항원으로 작용하는 것으로 보고되었다<sup>15)</sup>.

## 실험재료 및 방법

### 1. 실험 동물의 사육 및 시료 채취

본 실험에서는 Sprague-Dawley종 암컷 흰 쥐를 두 군으로 나누어 대조군과  $\beta$ -lactoglobulin(BLG) 100  $\mu$ g을 복부 주사하여 면역(1차 면역)한 면역군을 두었다. 그 후 수컷과 교배시켜 임신이 확인되면 차례대로 고단백 식이 혹은 저단백 식이를 공급하여 사육하였다. 따라서, 고단백 면역군(IH : Immunized High protein), 저단백 면역군(IL : Immunized Low protein), 고단백 대조군(CH : Control High protein), 저단백 대조군(CL : Control Low protein)의 4군의 실험군으로 나누었다.

BLG에 대한 항체 생성을 확실히 하기 위하여 임신 18일에 면역군에게 BLG 100 $\mu$ g으로 2차 면역을 실시하였다. 출산 후 각 어미쥐당 새끼쥐의 수를 8마리로 조절하였고, 출산 후 수유기간 동안 매주 어미쥐에서 혈액과 유즙을 채취하였다.

새끼쥐는 생후 3주에 이주시켜 암컷(F1)만을 각 어미에게서 1~2마리씩 무작위 추출하여 대조군은 각 그룹당 6마리, 면역군은 각 그룹당 8마리를 어미와 같은 식이로 면역군의 어미로부터 이행된 BLG specific Immunoglobulin의 수준이 완전히 떨어질 때까지 계속 사육하였다(IHF : Pups of Immunized High protein, ILF : Pups of Immunized Low protien, CHF : Pups of Control High protien, CLF : pups of Control Low protein). 이 사육기간 동안 1~2주 간격으로 혈액을 채취하여 새끼쥐의 면역 물질 함량의 변화 추이를 관찰하였는데(생후 5, 6, 7, 9, 11, 13, 15주), 이 기간이 15주가 걸렸다.

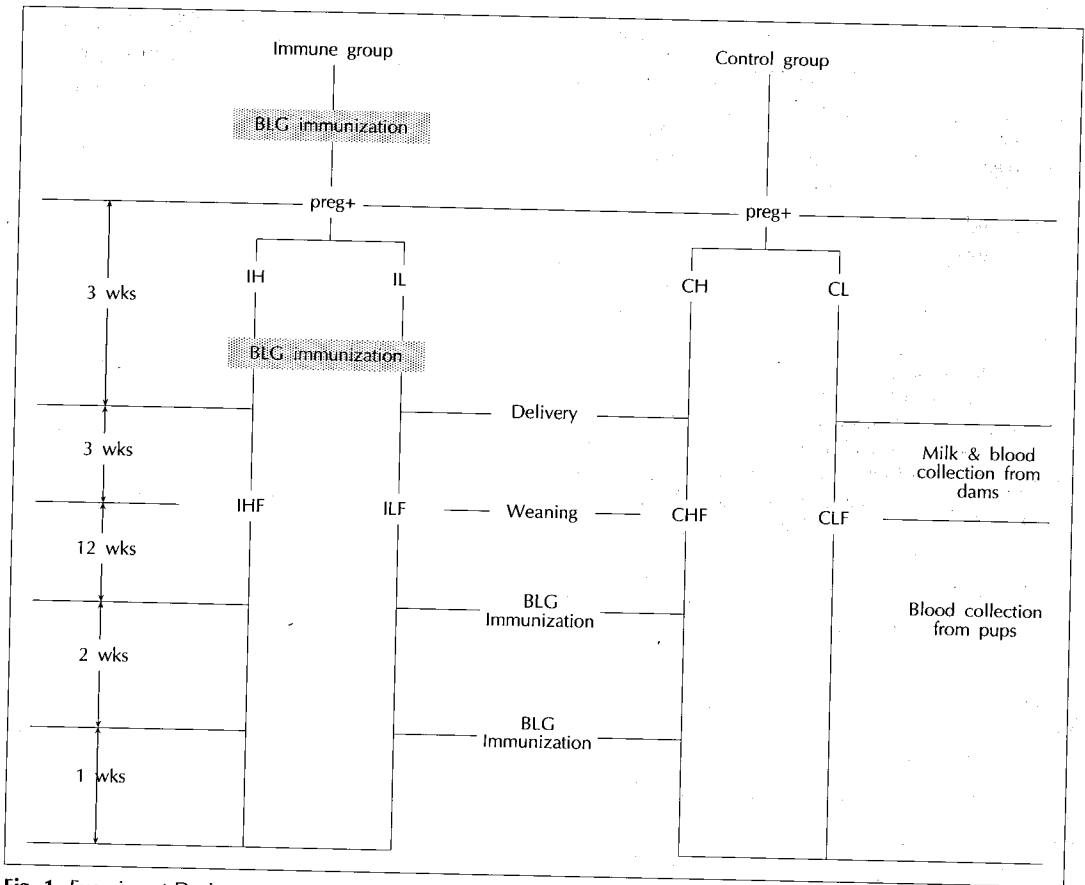


Fig. 1. Experiment Design.

IH:immunized dams fed 25% soy protein diet  
 IL:immunized dams fed 10% soy protein diet  
 CH:control dams fed 25% soy protein diet  
 CL:control dams fed 10% soy protein diet

IHF:pups of IH group  
 ILF:pups of IL group  
 CHF:pups of CH group  
 CLF:pups of CL group

면역군 새끼의 BLG specific Immunoglobulin의 수준이 완전히 떨어진 생후 15주에 4 실험군의 새끼에게 모두 BLG 100µg으로 1차 면역을 실시하고 다시 2주 후에 2차 면역을 하였으며 각각의 면역 1주후 혈액을 채취 하였다. 실험군의 분류 및 실험동물의 사육일정은 Fig. 1에 나타내었다.

실험 식이 Table 1에 제시된 바와 같이 단백질의 함량에 따라서 고단백 식이(25% soy protein)와 저단백 식이(10% soy protein)로 하였다. 실험 식이의 단백질 급원은 BLG를 함유하지 않은 isolated soy protein (isolated soy protein supro 535, protein technologies international)을 사용하여 단백질 급원의 BLG에 의한 경구 관용(oral tolerance)<sup>16)</sup>을 막도록 하였다.

혈액은 실험동물의 안저정맥에서 채취한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 유즙은

oxytocin을 주사한 10분후에 감압장치를 이용하여 수집 해서<sup>17)</sup> 10,000 rpm에서 45분간 원심분리한 후 지방층과 cell pellet을 제거하여 유청을 얻었으며 이들 시료는 시약병에 분주하여 분석시까지 -70℃에서 보관하였다.

## 2. 단백질 및 면역물질 분석

혈청, 유청과 유즙으로부터 총 단백질 함량, total Ig A, total Ig G 와 lysozyme을 분석하였고 항체의 생성과 모유를 통한 항체의 이행정도를 구체적으로 살펴보고자 BLG로 특이적 항체생성을 유도하여 BLG에 대한 specific IgA와 IgG를 분석하였다.

단백질은 Lowry법<sup>18)</sup>을 이용하여 분석하였다. IgA와 IgG는 SRID(Single Radial Immunodiffusion method, 방사면역확산법)에 의하여 측정하였고<sup>19)</sup> 항혈청으로는 각각 Goat anti-rat IgA(ICN, cat no 64-351)와 anti-rat IgG(Sigma, cat no R-5130)를 사용하였

**Table 1.** Composition of experimental diets(g/ Kg diet)

	High protein diet	Low protien diet
Corn starch	559.25	711.5
Soy protein	250	100
Corn oil	100	100
Salt mixture <sup>1)</sup>	35	35
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	10	10
Choline chloride	2	2
Methionine	3.75	1.5
Cellulose	40	40

1) AIN salt mixture(g/ Kg Mixture) : Calcium phosphate, dibasic 500, Sodium chloride 74, Potassium citrate, monohydrate 220, potassium sulfate 52, Magnesium oxide 24, Manganous carbonate 3.5, Ferric citrate 6.0, Zinc carbonate 1.6, Cupric carbonate 0.3, Potassium iodate 0.01, Chromium potassium sulfate 0.05, Sucrose finely powdered to make 1000.0g

2) AIN vitamin mixture(per Kg Mixture) : Thiamin.HCl 600 mg, Riboflavin 600 mg, Pyridoxine.HCl 700 mg, Nicotinic acid 3g, D-calcium pantothenate 1.6 g, Folic acid 200mg, D-Biotin 20mg, Cyanocobalamin 1mg, Vitamin A(Retinyol palmitate) 400,000 IU, Vitamin E(dl- $\alpha$ -tocopheryl acetate) 5,000 IU, Cholecalciferol 2.5 mg, Menaquinone 5.0mg, Sucrose finely powdered to make 1000.0g

다. Lysozyme 분석은 Lysozyme이 gram양성 세균인 *Mirococcus lutus*의 세포벽을 파괴함으로써 용균시키는 원리를 이용한 Lyso plate assay method를 이용하였다<sup>20)</sup>.

항원으로 사용된 BLG에 대한 specific IgA는 ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)<sup>13)</sup>에 의하여 분석하였고 항혈청은 goat anti-rat IgA(ICN, cat no 64-351)와 anti-goat IgG alkaline phosphatase conjugate(Sigma, cat no A-4187)을 사용하였다. BLG specific IgG는 항혈청으로 anti-rat IgG alkaline phosphatase conjugate(Sigma, cat no A-9654)를 사용하여 ELISA에 의해 분석하였다.

### 3. 자료의 처리

어미쥐의 혈청 및 유청 IgA, IgG, lysozyme과 유즙 내 단백질 함량은 식이 단백질 수준과 기간에 의한 영향을 2-way ANOVA에 의하여 분석하였다. 어미쥐의 혈청 단백질 함량과 BLG specific IgA, BLG specific IgG에 대한 분석 결과는 면역군의 평균간의 유의성을 Student's t-test로 검증하였고, BLG specific IgA, IgG는 이와 병행하여 식이 단백질 수준과 기간에 의한 요인분석을 2-way ANOVA에 의하여 실시하였다. 새끼쥐의 IgA, IgG 함량은 식이단백질, 나이, 어미쥐 면역의 영향을 3-way ANOVA에 의하여 분석하였다. 새끼

쥐의 혈청 단백질 함량과 1,2차 면역후 BLG specific IgA, IgG함량은 식이단백질과 어미쥐 면역의 영향을 2-way ANOVA에 의하여 분석하였다. 또한, 면역물질의 이행 정도를 Pearson's correlation으로 분석하였다. 유의성은  $\alpha=0.05$  수준에서 검증하였고 모든 통계분석은 SAS package를 이용하여 처리하였다.

## 결과 및 고찰

임신기간과 수유기간 동안 어미쥐의 식이 섭취량은 그 료간 차이를 보이지 않았으나 단백질 섭취량은 고단백군에서 높았고 임신기 동안의 체중 증가량 또한 고단백군에서 높았다. 새끼쥐도 18주간의 사육기간 동안 정상적인 성장을 하였으며 식이 섭취량, 단백질 섭취량 및 체중 증가량이 모두 고단백 식이를 먹은 군에서 높았다.

### 1. 어미쥐 혈청과 유즙의 단백질과 면역물질 함량

어미쥐의 혈청과 유즙의 성분은 BLG( $\beta$ -lactoglobulin)로 면역한 면역군 어미쥐만을 비교하여 Table 2와 3에 수록하였다. 수유기간 동안 측정된 혈청 단백질과 IgA값은 고단백군에서 높은 경향을 보였다( $p < 0.1$ ). IgG와 lysozyme 농도는 식이 단백질 수준의 영향을 받아 고단백군에서 높았고 수유 기간이 경과함에 따라 감소하였는데 수유 1주에서는 고단백군과 저단백군 사이에 차이를 보이지 않다가 수유기간이 경과함에 따라 차이가 커졌다(Table 2). 상당량의 BLG specific IgA와 IgG가 어미쥐의 혈청에서 검출되어 anti-BLG 항체가 생성됨을 알 수 있었고, 기간이 경과함에 따라 항체값이 감소하는 경향을 보여 BLG specific IgG 함량에는 기간에 따른 유의적인 차이가 있었으며 식이 단백질에 의한 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 고단백군에서 높은 경향을 보였다.

이렇게 혈청 항체가 저단백군에서 낮은 것은 Chang<sup>5)</sup>이 임신기부터 영양 불량인 수유부의 혈청 IgG가 정상 수유부보다 낮음을 보고하는등 선행연구<sup>21,23)</sup>의 결과와 일치하고 있다. 단백질 결핍시에는 T-cell dependent B-cell의 기능이 감소하여 항체의 생성이 감소할 수 있을 것이라는 기전이 제시되었는데<sup>23)</sup> 본 연구의 결과는 이러한 제안을 뒷받침 하고 있다고 본다. 또한, 저단백군에서 혈청 lysozyme이 낮은것도 선행 연구들과 일치하였다<sup>2,3)</sup>. 수유 기간에 따른 Lysozyme과 IgG 값의 감소는 저단백군에서 더욱 현저하여 고,저 단백질간의 차이가 커졌는데 이는 단백질 영양불량의 경우 면역물질의 수준을 유지하지 못하는 것으로 생각된다.

수유 1, 2, 3주에 채취한 유즙의 단백질 함량과 유청

**Table 2.** Concentrations of protein and immune substances in dams's serum<sup>1)</sup>

Period	Lactation (weeks)	IH(8) <sup>2)</sup>	IL(7)	SF <sup>3)</sup>
Protein(g/dl)	3	9.52 ± 0.88	6.98 ± 0.84 <sup>NS4)</sup>	
IgA(RID area, mm <sup>2</sup> )	1	91.25 ± 5.40	81.06 ± 4.06	NS
	2	80.50 ± 4.90	67.74 ± 5.26	
	3	77.68 ± 5.36	75.28 ± 5.56	
IgG(RID area, mm <sup>2</sup> )	1	92.51 ± 3.43	88.35 ± 6.02	A, B, AB
	2	79.85 ± 4.06	81.00 ± 6.80	
	3	87.87 ± 3.91	63.25 ± 2.80	
LZ(RID area, mm <sup>2</sup> )	1	97.95 ± 3.82	93.34 ± 3.58	A, B, AB
	2	99.98 ± 3.23	88.22 ± 5.20	
	3	93.21 ± 2.05	68.84 ± 2.27	
BLG specific IgA (ELISA unit, OD)	1	0.913 ± 0.064	0.695 ± 0.151	NS
	2	0.773 ± 0.086	0.598 ± 0.159	
	3	0.656 ± 0.086	0.495 ± 0.137	
BLG specific IgG (ELISA unit, OD)	1	0.879 ± 0.011	0.871 ± 0.044	B
	2	0.804 ± 0.031	0.774 ± 0.056	
	3	0.728 ± 0.044	0.616 ± 0.075	

1) Mean ± S.E.

2) Number of samples

3) A : Effect of dietary protein level was significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

B : Effect of lactation period was significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

AB : Interaction between A+B factor was significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

NS : Effect of dietary protein level and lactation period was not significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

4) Effect of dietary protein level was not significant at  $\alpha=0.05$  by Student's t-test

**Table 3.** Levels of protein and immune substances in milk<sup>1)</sup>

Period	Lactation (weeks)	IH(8) <sup>2)</sup>	IL(7)	SF <sup>3)</sup>
Protein(g/dl)	1	14.93 ± 0.65	15.44 ± 0.80	NS
	2	14.40 ± 0.46	13.29 ± 0.56	
	3	15.76 ± 0.79	13.58 ± 0.89	
IgA(RID area, mm <sup>2</sup> )	1	97.43 ± 6.87	106.99 ± 7.1	NS
	2	133.89 ± 7.00	113.29 ± 12.65	
	3	132.00 ± 9.27	105.15 ± 11.83	
IgG(RID area, mm <sup>2</sup> )	1	112.13 ± 7.50	105.48 ± 5.77	NS
	2	113.79 ± 4.49	112.14 ± 5.82	
	3	133.63 ± 4.14	100.53 ± 6.66	
LZ(RID area, mm <sup>2</sup> )	1	92.39 ± 5.66	66.35 ± 3.14	A, B, AB
	2	89.98 ± 4.20	67.49 ± 3.84	
	3	81.71 ± 3.49	60.92 ± 3.70	
BLG specific IgA (ELISA unit, OD)	1	0.889 ± 0.106	0.604 ± 0.157	A, B
	2	0.568 ± 0.071	0.391 ± 0.104	
	3	0.499 ± 0.057	0.306 ± 0.083	
BLG specific IgG (ELISA unit, OD)	1	0.961 ± 0.073	0.854 ± 0.097	NS
	2	0.910 ± 0.053	0.802 ± 0.091	
	3	0.784 ± 0.057	0.634 ± 0.112	

1) Mean ± S.E.

2) Number of samples

3) A : Effect of dietary protein level was significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

B : Effect of lactation period was significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

AB : Interaction between A+B factor was significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

NS : Effect of dietary protein level and lactation period was not significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

IgA, IgG값은 그룹간 차이를 보이지 않았고 기간에 따른 변화도 없었다(Table 3). 유즙의 lysozyme은 혈청에서와 같이 고단백군에서 높은 값을 보였고 수유기간이

경과함에 따라 감소하였다. 또한 면역군의 유청에서도 상당량의 BLG specific IgA와 IgG가 검출되어 어미젖이 노출된 항원에 대한 항체가 혈청을 통해 유즙으로 분

**Table 4.** Levels of serum protein, IgA and IgG in pups<sup>1)</sup>

Age(weeks)	IHF(8) <sup>2)</sup>	ILF(8)	CHF(6)	CLF(6)	SF <sup>3)</sup>	
Protein(g/dl)	5	9.16±0.21	8.07±0.32	9.37±0.29	7.95±0.21	A
	18	9.58±0.32	8.50±0.26	9.42±0.28	8.63±0.23	A
IgA(RID area, mm <sup>2</sup> )	5	80.72±3.59	90.66±5.89	110.28±7.44	101.80±12.71	A, C
	6	88.96±4.47	88.89±8.95	95.70±7.39	90.21±3.02	
	7	93.60±7.03	88.07±4.70	101.22±5.89	97.73±4.55	
	9	113.91±8.62	100.89±8.12	110.28±7.44	92.80±4.46	
	11	102.01±5.82	87.87±3.31	107.45±7.47	90.21±3.02	
	13	97.98±3.95	93.24±6.71	101.22±5.81	92.56±2.34	
	15	97.59±5.11	85.53±3.31	110.13±5.68	90.17±3.01	
IgG(RID area, mm <sup>2</sup> )	5	105.08±4.76	90.21±3.02	96.53±4.64	88.26±5.80	A, B, BC
	6	85.86±4.41	83.19±3.02	107.12±6.15	93.94±3.97	
	7	86.65±2.68	91.31±3.03	95.18±4.46	85.69±5.04	
	9	101.54±5.78	82.19±4.17	95.18±4.46	95.14±3.77	
	11	117.98±5.82	105.24±3.66	102.43±4.90	96.66±6.35	
	13	100.59±4.61	102.79±5.50	98.17±0.31	100.07±3.34	
	15	115.60±5.48	97.73±4.55	107.12±6.15	105.33±5.50	

1) Mean±S.E.

2) Number of samples

3) A : Effect of dietary protein level was significant at  $\alpha=0.05$  by F-testB : Effect of age was significant at  $\alpha=0.05$  by F-testC : Effect of immunization was significant at  $\alpha=0.05$  by F-testBC : Interaction between B+C factor was significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

비됨을 알 수 있었다. 따라서, 모체에서 아기로의 면역 이행에서 수유가 중요한 역할을 담당함을 알 수 있었다. 유청의 BLG specific IgA는 식이 단백질 수준의 영향을 받아 고단백군에서 높은 값을 보였고 BLG specific IgG값도 고단백군에서 높은 경향을 보여( $p < 0.1$ ) 식이 단백질 수준이 항원 특이적 항체 함량에도 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 이 유청내 BLG에 대한 항체값들도 수유 기간이 경과함에 따라 감소하였다. 모유내 항원 특이적인 항체(antigen specific antibody)로는 bacteria, virus, fungi 및 식품에 대한 항체들이 존재한다<sup>8-10</sup>. 이들은 주로 모체의 GALT(Gut-associated lymphoid tissue)중의 Peyer's patches에 항원이 노출되어 이 항원에 대한 lymphocyte가 분화, 성숙된 후 유선으로 이동하여(homing) 항체를 생성하는 entero-mammary link에 의해 모유내에 분비되는 것으로 설명되고 있다<sup>9,21</sup>. 이러한 모체에서 아기로의 항원 특이적 항체의 이동은 모체가 노출되는 항원에 아기도 노출될 가능성이 크므로 중요한 의미를 갖는다고 보겠다.

## 2. 새끼쥐 혈청의 단백질과 면역물질 함량

새끼쥐의 혈청 단백질과 IgA, IgG 함량은 Table 4에 제시하였다. 생후 5주와 18주에 측정된 새끼쥐의 혈청 단백질은 고단백군에서 높았으나 어미쥐의 면역여부에 따른 차이는 없었다. 생후 5주부터 15주까지 측정된 혈청 IgA는 고단백 식이를 먹은 군에서(IHF, CHF) 높았고, 어미에게 면역을 하지 않았던 대조군(CHF, CLF)

에서 높았으며 기간에 따른 변화는 없었다. 대조군에서 혈청 IgA가 높은 이유는 본 실험에서는 설명되지 않는다. IgG는 고단백군에서 높았고 기간에 따라 값이 변화하는 양상을 보였다. 그러므로 고단백식이로 사육된 어미에게서 태어나 계속 고단백 식이를 먹은 새끼쥐의 혈청 단백질 수준이 높아 단백질 영양상태가 양호함을 나타냈고 이들 쥐에서 항체의 농도가 높아 면역기능이 증진된다고 볼 수 있었다.

모체가 노출된 항원에 대한 항체가 아기<sup>8)</sup>, 또는 새끼 쥐<sup>9)</sup>의 혈청에서 발견되었다는 보고들에서처럼 본 연구에서도 BLG로 면역한 어미로부터 태어난 면역군 새끼 쥐의 혈청에서는 고,저단백군 모두 상당량의 BLG specific IgA와 IgG가 존재하였는데 BLG specific IgA는 생후 13주까지, IgG는 생후 15주까지 검출되었다. 그러나 대조군에서 태어난 새끼의 혈청에서는 BLG에 대한 항체가 검출되지 않았다(Fig. 2). 모체에서 아기로의 면역물질의 이행은 태아기때 태반을 통한 이동과<sup>22</sup> 출생 후 수유를 통한 이동의 2가지 경로를 통하여 이루어지는데, 본 연구에서는 태반을 통한 이동은 조사되지 않았지만 유즙으로 BLG specific IgA와 BLG specific IgG가 다양 분비되는 것이 확인되었으므로(Table 3) 수유를 통한 이행이 중요한 역할을 담당한 것으로 볼 수 있다. 또한, IgG는 태반을 통해 태아에게 전달되지만 IgA는 태반을 통과하지 못하는 것으로 알려져 있으며<sup>23</sup>, 본 연구 결과 새끼쥐 혈청에서 BLG specific IgG뿐만 아니라 BLG specific IgA도 검출된 것으

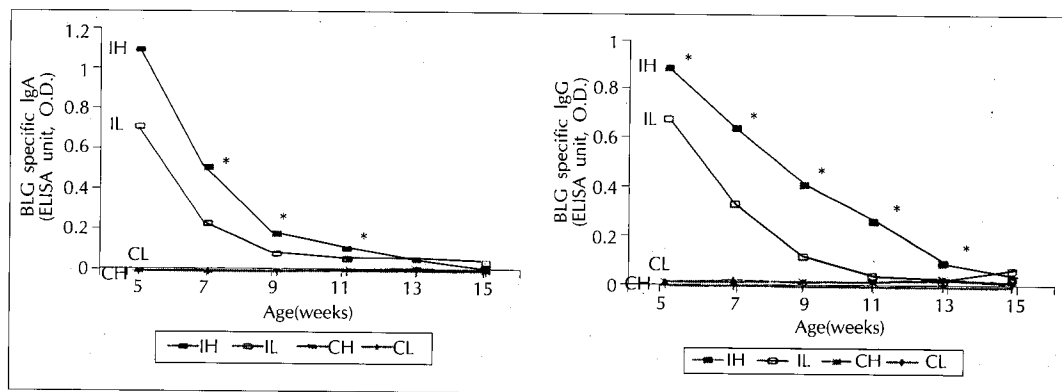


Fig. 2. Levels of serum BLG specific IgA, BLG specific IgG before immunization in pups.  
\* Significantly different between groups by student's t-test

Table 5. Levels of serum BLG specific IgA, IgG in pups after BLG immunization<sup>1)</sup>

(weeks)	Age	IHF(8) <sup>2)</sup>	ILF(8)	CHF(6)	CLF(6)	SF <sup>3)</sup>
BLG specific IgA (ELISA unit, OD)						
	after 1st immunization	0.823±0.121	0.461±0.055	0.779±0.126	0.565±0.108	NS
	after 2nd immunization	1.449±0.105	1.613±0.029	1.400±0.077	1.267±0.192	
BLG specific IgG (ELISA unit, OD)						
	after 1st immunization	0.305±0.047	0.412±0.036	0.315±0.050	0.278±0.038	NS
	after 2nd immunization	0.976±0.096	1.202±0.055	0.906±0.097	0.864±0.183	

1) Mean±S.E.

2) Number of samples

3) NS : Effect of dietary protein level and immunization was not significant at  $\alpha=0.05$  by F-test

Table 6. Pearson's correlation coefficient on passive immunization

		Dam's serum		Pup's serum(before immunization)	
BLG specific IgA	Dam's milk	IH	$r=0.884^{*1)}$	IH	$r=0.996^*$
		IL	$r=0.940^*$	IL	$r=0.885^*$
BLG specific IgG	Dam's milk	IH	$r=0.826^*$	IH	$r=0.998^*$
		IL	$r=0.870^*$	IL	$r=0.901^*$

1) Significant at  $\alpha=0.05$

로 보아 이러한 BLG specific IgA의 이동은 출생 후 수유를 통한 결과로 사료된다. 모유의 IgA는 아기의 장세포를 통해 흡수되지 않는 것으로 생각되어 왔었으나, 출생 후 초기에 IgA가 아기에게서 흡수된다는 증거들이 보고된바 있어<sup>8)</sup> 출생초기 유즙의 항체 함량은 신생아의 면역기능에 중요한 역할을 담당한다고 보겠다.

BLG로 면역한 어미에게서 태어난 새끼쥐의 생후 5주부터 15주까지의 BLG specific IgA와 IgG값은 모두 식이 단백질의 영향을 받아 고단백군에서 높았고 기간이 경과하면서 감소하였는데, 저단백군의 항체값이 더 빨리 감소하였고 고단백군이 더 오랜기간 항체를 유지하는 것을 볼 수 있었다. 따라서, 식이 단백질 수준은 모체로부터 이행된 항체의 수준 뿐만 아니라 유지기간에도 영향을 미치는 것으로 나타났다(Fig. 2) 또한, 고단백군과

저단백군 사이의 BLG에 대한 항체값의 차이는 어미쥐의 혈청에서보다 새끼쥐의 혈청에서 더 뚜렷한데 이는 식이가 항체 이행에 영향을 미치기 때문이라고 사료된다.

수유를 통한 수동 면역이 새끼가 성장한 후에 같은 항원에 노출되었을 때 항체 생성에 영향을 미치는 가를 알아보기 위하여 어미쥐로부터 이행된 BLG에 대한 항체값이 대조군 수준으로 떨어진 생후 15주에 BLG로 면역을 실시하고 1주일 후 분석한 혈청 항체는 면역군과 대조군의 4군 모두에서 상당량 검출되었으나 식이 단백질 수준과 과거 어미에게서 이행되었던 항체의 영향은 보이지 않았다(Table 5). 2차 면역후의 항체값은 1차 면역후의 항체값보다 4군 모두에서 증가하였으나 식이 단백질과 어미 면역의 영향은 나타나지 않았다. 그러므로 어

미로부터 새끼에게로 이행된 수유를 통한 수동면역은 새끼의 항체 생성에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 어미취에게 면역한 것이 새끼취 항체 생성에 영향을 미치지 않은 결과는 유즙에서 새끼로의 항체 이동이 면역세포의 이동에 의한 것이 아니라 단순히 항체가 이동된 것임을 나타낸다고 하겠다.

### 3. BLG specific Immunoglobulin의 이행 정도

모체의 항체가 수유를 통하여 새끼에게로 이행되는 정도를 알아보기 위하여 어미취의 혈청과 유즙, 또한 새끼취의 혈청내의 anti-BLG 항체값의 상관계수를 구하였다(Table 6). 어미취에게 BLG를 면역한 후 어미취의 혈청에서 BLG specific IgA와 IgG가 나타나는 것을 볼 수 있었으며 유청에서도 상당량의 항체가 나타나는 결과를 보였는데, 혈청과 유청내 항체값의 수준은 상관계수  $r=0.826\sim0.940$ 로 높은 상관 관계가 있었다. 또한 면역군 어미취의 유즙을 먹고 성장한 면역군 새끼취의 혈청에서 BLG에 대한 항체가 검출되었으며, 역시 이 항체값의 수준은 모체 유청내 항체값의 수준과 높은 상관 관계를 보여주어( $r=0.885\sim0.998$ ) 어미취의 항체수준이 새끼취의 항체수준에 절대적인 영향을 미치며 수유가 그러한 면역 이행에 중요한 역할을 담당하고 있음을 나타내었다.

## 요약 및 결론

본 연구는 임신 및 수유기의 식이 단백질 수준이 유즙의 면역물질 함량에 미치는 영향과 수유를 통하여 이루어지는 수동면역의 정도를 조사하고 또한 수유를 통한 새끼로의 수동면역이 새끼가 성장한 후 같은 항원에 대한 항체 생성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 행해졌다. 연구 결과를 종합해 보면 다음과 같다.

1) 식이 단백질 수준은 어미취 혈청의 면역 물질 함량에 미쳐 고단백군에서 저단백군보다 IgG와 lysozyme 값이 높았고 이러한 영향은 새끼취에서도 나타나 고단백군이 혈청 IgA와 IgG값이 더 높은 결과를 보였다.

2) 식이 단백질에 의한 영향은 유즙의 면역물질 함량에서도 나타났는데 고단백군이 저단백군보다 유청의 lysozyme과 BLG specific IgA 농도가 높았다. 그러므로 모체의 단백질 영양상태는 어미취의 혈청뿐만 아니라 유즙의 면역물질 함량에도 영향을 미쳐 새끼의 면역기능에 영향을 미칠 수 있음을 보여주었다.

3) BLG로 면역한 어미취의 유청과 이 유즙을 먹고 성장한 새끼취의 혈청에서 BLG specific IgA 와 IgG가 다량 검출되어 수유를 통하여 항체가 새끼취에게로 이행

됨을 알 수 있었다. 또한, 어미취의 혈청과 유즙, 새끼취의 혈청의 이들 항체의 농도 사이에 높은 상관 관계가 있음이 나타나 모체의 면역기능과 수유를 통한 수동면역이 아기의 면역기능에 절대적인 영향을 미칠 수 있음을 시사하였다.

4) 새끼취 혈청의 BLG에 대한 항체 농도는 고단백군이 저단백군보다 더 높았으며 또한 더 오랜기간 유지하여 식이 단백질 수준은 모체로부터 이행된 항체의 농도와 유지기간에도 영향을 미치는 것으로 보였다.

5) 새끼에게 BLG 면역을 한 후 새끼 혈청의 BLG specific IgA와 BLG specific IgG의 농도는 BLG로 면역된 어미에게서 태어난 새끼와 대조군의 새끼 사이에 차이가 없었다. 그러므로 수유를 통하여 어미에서 새끼로 이행된 수동면역은 나중에 새끼가 같은 항원에 대한 항체 생성 능력에는 영향을 미치지 못함을 알 수 있었다.

결론적으로 어미의 단백질 영양상태는 모유의 면역물질 함량에 영향을 미치며 이것은 차례로 새끼의 혈청 면역물질 함량에 영향을 미치기 때문에 모체의 단백질 영양상태는 아기의 면역기능에 중요한 역할을 한다고 보겠다. 본 연구 결과는 임신기 및 수유기의 단백질 영양상태의 중요성을 보여 주며 아기를 모유로 양육하는 것이 아기의 면역기능을 증진 시킬것으로 보여 면역의 측면에서 모유 수유의 중요성을 입증하고 있다고 보겠다.

## Literature cited

- 1) 김화영. 영양상태와 면역능력. *한국영양학회지* 25 : 312-320, 1992
- 2) Chandra RK. Nutrition and immunity : lessons from the past and new insights into the future. *Am J Clin Nutr* 53 : 1087-1101, 1991
- 3) Chandra RK. Protein-energy malnutrition and immunological responses. *J Nutr* 122 : 597-600, 1992
- 4) Miranda R, Saravia NG, Ackerman R, Murphy N, McMurray DN. Effect of maternal nutritional status on immunological substances in human colostrum and milk. *Am J Clin Nutr* 37 : 632-340, 1983
- 5) Chang SJ. Antimicrobial proteins of maternal and cord sera and human milk in relation to maternal nutritional status. *Am J Clin Nutr* 51 : 183-187, 1990
- 6) 김화영 · 김영나 · 김순미. 임신부의 영양상태와 모유의 면역물질함량에 관한 연구. *한국영양학회지* 27 : 263-271, 1994
- 7) Michalek SM, Rahman AFR, Mcghee JR. Rat immunoglobulin in serum and secretions : Comparison of IgM, IgA and IgG in serum, colostrum, milk and saliva of protein malnourished and normal rats. *Proc Soc Exp*



*Biol Med* 148 : 1114-1118, 1975

- 8) Orga PL, Losonsky GA, Fishaut M. Colostrum derived immunity and maternal-neonatal interaction. *Ann N Y Acad Sci* 409 : 82-95, 1983
- 9) Hanson L, Ahlstedt S, Andersson B, Cruz JR. The immune responses of the mammary gland and its significance for the neonate. *Ann Allergy* 53 : 576-582, 1984
- 10) Komatsu T, Okao M, Miyamoto H, Chen T, Shinka S. Effects of early antigen exposure through lactation on later specific antibody responses in mice. *J Immunol* 141 : 2895-2906, 1988
- 11) Banked milk is low in immunologically protective proteins. *Nutr Rev* 45 : 44-46, 1987
- 12) Reddy V, Bhaskaram C, Raghuramuh N, Jagadeesan V. Antimicrobial factors in human milk. *Acta Paediatr Scand* 66 : 229-232, 1977
- 13) Hennart PF, Brasseur DJ, Desnoeck JBD. Lysozyme, lactoferrin, and secretory immunoglobulin A content in breast milk : Influence of duration of lactation, nutrition status, prolactin status, and parity of mother. *Am J Clin Nutr* 53 : 32-29, 1991
- 14) Chandra RK. Antibody formation in first and second generation offspring of nutritionally deprived rats. *Science* 190 : 289-290, 1975
- 15) Huang Q, Coleman JW, Stanworth DR. Investigation of the allergenicity of  $\beta$ -lactoglobulin and its cleavage fragments. *Int Allergy appl Immun* 78 : 337-344, 1985
- 16) Kim SM, Enomoto A, hachimura S, Yamauch K, Kam-inogana S. Serum antibody response elicited by a casein diet is directed to only limited determinants of a s1-casein. *Int Archs Allergy appl Immun* 101 : 260-265, 1993
- 17) Kim HY, Picciano MF, Wallig MA. Postnatal selenium repletion protects lungs of neonatal rats from hyperoxia. *J Nutr* 122 : 1760-1767, 1992
- 18) Lowry OH, Gosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 19) 松橋直・成内秀雄. 免疫學實驗入門, 白井美津子學會出版 セソタ pp.97-100, 1985
- 20) Osserman EF, Lawlor DP. Serum and urinary lysozyme (muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia. *J Exp Med* 24 : 921-951, 1966
- 21) Bertotto A, Castellucci G, Scalise F, Tognellini R, Vaccaro R. "Memory" T cells in human breast milk. *Acta Padiatr Scand* 80 : 98-99, 1991
- 22) Israel EJ, Simister N, Freiberg E, Caplan A, Walker WA. Immunoglobulin G binding sites on the human foetal intestine : A possible mechanism for the passive transfer of immunity from mother to infant. *Immunology* 79 : 77-81, 1993
- 23) Mata LJ, Wyatt RG. Host resistance to infection. *Am J Clin Nutr* 24 : 976-986, 1971