

흡연자에 있어 비타민 C 보충이 면역능력에 미치는 영향*

김 우 경

단국대학교 식품영양학과

Effects of Vitamin C Supplementation on Immune Status in Smoking and Nonsmoking Male College Students

Kim, Woo Kyung

Department of Food and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, Korea

ABSTRACT

This study investigated the effects of vitamin C supplementation on immune status in smoking and nonsmoking male college students. Blood samples were obtained from 15 healthy smoking and from 15 healthy nonsmoking volunteers before and 4 weeks after vitamin C supplementation(1000mg/day). Daily nutrient intake was also calculated. Plasma vitamin C, E, and A concentrations, white blood cells and subpopulations, lymphocytes and subpopulations, NK cell percentage, plasma immunoglobulin A, G, M and complement C₃, plasma interleukin-2, and prostaglandin E₂ were measured. Daily vitamin C consumption was lower in smokers than in nonsmokers. Vitamin C supplementation significantly increased plasma vitamin C in smokers, and increased NK cell percentage in smokers and nonsmokers. Plasma IL-2 concentrations were significantly increased by vitamin C supplementation in nonsmokers, and decreased helper/suppressor T cell ratio were decreased in smokers. Plasma immunoglobulin G, M, and complement C₃ were slightly increased by vitamin C supplementation, but the differences were not significant. White blood cells and subpopulation percentage and plasma prostaglandin E₂ concentration were not affected by smoking and vitamin C supplementation. These findings suggest that vitamin C supplementation may have immunoregulatory effects in smokers as well as nonsmokers. (*Korean J Nutrition* 31(8) : 1244~1253, 1998)

KEY WORDS : Smoking · Vitamin C · Immune status.

서 론

비타민 C는 혈장에서 가장 풍부하고 효과적인 수용성 항산화제로써 reactive oxygen intermediate(ROI) scavenger와 지질과산화의 시작(initiation)을 방해하여¹⁾ 산화 stress에 의해 야기되는 퇴행과정과 질병발생에

채택일 : 1998년 10월 8일

*This study was supported by a grant from Dankook University(1998).

서 신체를 보호하는 중요한 역할을 한다²⁾. 비타민 C는 phagocytes에서 유래되는 산화제에 대한 혈장에서의 첫번째 방어작용을 담당하여 비타민 C가 없을 때 산화적 손상을 입게 되고 이는 면역능력을 저하시킬 수 있으며³⁾, 다른 한편으로 prostaglandin과 cytokine의 생성 조절 등⁴⁾ 면역능력과 관계하며 비타민 C가 부족하면 세균에 감염당하기 쉬우며, 세포매개성 면역능력이 손상된다고 한다⁵⁾. 비타민 C를 젊은이나 노인에서, 경구 투여하거나 정맥주사를 하였을 때 Con A와 PHA에 의해 림프구의 증식능력이 증가된다고⁶⁾ 보고되어

연구방법

1. 조사대상, 식이조사 및 비타민 C 보충

본 연구는 서울에 거주하는 흡연, 비흡연 남학생 각기 15명, 총 30명을 대상으로 하였다. 흡연군의 흡연정도는 하루에 평균 18개피(10~20)를 피우고 1년에서 5년 사이의 흡연 경력이 있었다. 흡연정도를 경한 흡연자(1~9개피/일), 중등흡연자(10~19개피/일), 심한 흡연자(20개피이상/일)로 구분하였을 때¹⁴⁾ 본 대상자는 중등흡연자에 속하였다. 그리고 조사대상자들은 특별한 질병이 없는 건강한 상태이었고, 건강보조식품이나 비타민, 무기질을 포함하는 영양보충제를 섭취하고 있지 않았고, 비타민 C 보충기간에는 이러한 영양보충제의 섭취를 금하였다.

식이 조사는 비타민 C 보충을 시작하기 전에 24시간 회상법을 이용하여 하루에 섭취한 식품의 양과 종류를 조사하고, 이를 영양소 섭취 환산 프로그램에 의해 영양소 섭취량으로 계산하였다.

비타민 C는 서방형의 약제(유한양행)로 500mg이 들어 있는 캡슐을 하루에 2알씩 일정시간에 복용토록 하여 하루에 1000mg씩 4주간 섭취시켰다. 섭취기간동안 1주일에 한번씩 대상자와 개별 접촉하여 비타민 C 복용을 충실히 하고 있는지 확인하였으며, 비타민 C 보충 동안의 식이 섭취는 보충 전과 동일하게 유지하도록 주의 주었다.

2. 혈액 채취

조사대상자의 혈액은 비타민 C 보충 전후로, 10~12시간 금식한 후 공복상태에서 두번 채취하였다. 채취한 혈액의 일부는 전혈 상태로 혈액학적 조사와 면역세포 분획실험을 당일 실시하였으며, 나머지 혈액은 즉시 원심 분리하여 혈장을 얻은 후 생화학적 실험을 행하기 전까지 -70℃ deep freezer에 보관하였다.

3. 생화학적 분석

1) 혈장내 항산화비타민 농도 측정³³⁾

혈장 내 비타민 C, 비타민 E(α -tocopherol), 비타민 A(retinol) 농도는 HPLC(Shimadzu SCL-10A system, Japan)를 이용하였고 분석 조건은 Table 1과 같다.

비타민 C는 혈장 100 μ 에 동량의 10% metaphosphoric acid를 넣고 혼합한 후, 10,000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 얻고, 이를 여과하여 이중 20 μ 를 주입하여 분석하였다. α -tocopherol과 retinol 분

반응¹⁰⁾과 혈장 내 Ig 농도가 증가하였으며¹¹⁾, 동물에서는 자가면역질환의 발생이 감소되었다¹²⁾.

흡연은 감염성 질환, 암 및 심장·순환계질환을 포함한 만성질환의 위험을 증가시킨다고 알려져 있다¹³⁻¹⁵⁾. 특히 감염성 질환과 암의 위험성이 증가한다는 것은 면역 체계의 손상을 의미하는 것으로 만성 흡연자에서 세포매개성 면역과 체액성 면역반응 감소가 보고되었다¹⁶⁾. 흡연으로 인한 면역능력의 감소에 대한 기전은 확실하지 않지만 첫째, 흡연에 의해 분비되는 free radical에 대한 노출은 세포의 DNA를 손상시켜 발암과정을 초래하기도 하고, 여러 기관에서 염증반응을 일으킬 수 있다¹⁴⁾. 둘째는 nicotine의 직접적인 작용으로 nicotine은 plaque forming cell 반응과 림프구와 분획의 절대 수와 백분율에 영향을 주며, T-cell이 cell cycle에서 S-phase로 들어가는 것을 방해하여 T-cell anergy를 초래하고¹⁷⁾, 혈청 면역글로부린(Ig) 농도, Con A 등 mitogen 유도성 림프구 증식과 natural killer cell(NK cell)의 cytotoxicity를 감소시킨다¹⁸⁾¹⁹⁾. 셋째는 nicotine의 간접적인 작용으로 hypothalamus-pituitary-adrenal-axis를 자극하여 강력한 면역억제작용을 하는 glucocorticoid양을 증가시킨다는 것이다²⁰⁾. 마지막으로 benzo(a)pyrene과 같은 tobacco related polycyclic aromatic hydrocarbon은 B-cell의 분화를 억제시키며 lymphokine-activated killer cell의 cytotoxicity를 억제시킨다²¹⁾.

흡연자는 비흡연자보다 혈액 내 비타민 C 농도가 낮다²²⁻²⁵⁾는 것이 일관되게 보고되고 있으며, 담배연기에 사람의 혈장을 노출시키면 비타민 C, α -tocopherol, carotenoid들의 분해가 빠르게 일어난다고 한다³⁾²⁶⁾. 그러므로 흡연자에게 과일이나 채소의 섭취를 증가시키거나 비타민 C, 비타민 A와 α -tocopherol과 같은 항산화비타민의 보충을 추천하고 있다¹⁴⁾²⁷⁾. Diplock는²⁸⁾ 비타민 C의 과량 섭취는 oxalate stone 생성, uricosuria, 비타민 B₁₂ 파괴, 돌연변이성, 철분축적과 같은 문제점을 가지고 있으나 동물과 사람을 대상으로 한 여러 실험에서 이러한 부작용은 나타나지 않았다고 하였다.

흡연에 대한 국내의 연구는 흡연자의 영양섭취와 혈액내 항산화 비타민 수준²³⁾²⁹⁾³⁰⁾ 및 DNA의 손상 등이 이루어지고 있다³²⁾. 그러나 흡연자를 대상으로 비타민 C를 보충하였을 때 면역능력에 미치는 영향에 대한 연구는 국내, 외적으로 되어 있지 않은 상태이다. 그러므로 본 연구는 젊은 성인 남자를 대상으로 흡연자와 비흡연자에게 비타민 C를 보충시켜 비타민 C 보충이 면역능력에 어떠한 영향을 주는지를 알아보는 것을 목적으로 하였다.

석을 위한 시료의 전처리에는 혈장 200μ에 chloroform/metanol(2 : 1, v/v) 용액 1.2ml를 넣고 잘 혼합한 후 1000 rpm에서 10분간 원심분리하여 일정량의 유기용매 층을 얻었다. 얻은 용액은 질소가스를 이용하여 완전히 말린 후 mobile phase solution 100μ에 다시 녹여 이중 20μ를 주입하여 분석하였다.

2) 혈액학적지표

전혈을 이용하여 적혈구 수, 헤모글로빈 및 헤마토크릿치와 백혈구수 및 백혈구 백분율(lymphocytes, neutrophils, basophil, eosinophil, monocyte)을 coulter counter(STKS 660595, USA)로 측정하였다.

3) 면역세포 분획 측정

단클론항체(monoclonal antibody)를 이용하여 면역세포의 subset을 측정하였다. 전혈 100μ에 antibody로 total T cell을 CD3, helper T cell은 CD4, suppressor T cell은 CD8, B cell은 CD19, natural killer cell(NK cell)은 CD56을 각기 20μ씩 넣고 혼합하여 10분간 암소에서 incubation시켜 세포와 antibody가 결합하도록 하였다. 그후 lysing solution을 첨가하여 15분간 암소에서 다시 incubation시키고, 원심 분리하여 적혈구를 제거하고 면역세포만을 남겼다. Phosphate buffer saline으로 두 번 세척한 후에 세포 10,000개당 antibody와 결합한 세포 수를 flow cytometer(FACScan, Becton Dickinson, USA)를 이용하여 측정한 후 백분율로 나타내었다.

4) 면역글로부린 측정

혈장내 면역글로부린 A, G, M과 Complement C₃는 rate nephelometry법³⁰⁾에 의해 측정하였다.

5) Interleukin-2와 Prostaglandin E₂ 측정

혈장내 interleukin-2(IL-2, Endogen)와 prostaglandin E₂(PGE₂, Amersham)는 각기 kit를 사용하여 enzyme-linked immunoabsorbent assay에 의해 측정하였다.

4. 자료분석

실험결과는 SAS(statistical analysis system)를 이용하여 비타민 C 보충 전후의 평균과 표준 오차를 구하였다. 비타민 C 보충 전후와 흡연군과 비흡연군의 평균값의 차이는 student t-test를 이용하여 유의성을 검증하였고, 유의적인 차이가 있는 항목에만 표기하였다.

결과 및 고찰

1. 조사대상자의 일반적인 특징

흡연군과 비흡연군의 일반적인 특징은 Table 2와 같다. 나이는 평균 약 22세로 군간의 차이가 없었다. BMI (body mass index)는 비흡연자가 낮은 경향이었으나 유의적인 차이는 없었고, 20~25를 정상범위로 볼 때³⁵⁾ 두 군 모두 저체중이나 비만의 문제점을 가지고 있지 않은 정상에 속하였다. 일반적으로 흡연자의 경우 체중이 적게 나가는 것으로 보고되고 있으나³⁶⁾³⁷⁾, 젊은 흡연자의 경우는 흡연력이 짧기 때문에 흡연과 체중과의 관계가 약하다고 하였다²⁸⁾. 그리고 적혈구 수나 헤모글로빈, 헤마토크릿치를 보면 흡연군과 비흡연군사이에 차이가 없었고 두 군 모두 정상범위에 있어 본 연구에 참가한 대상자들은 빈혈 등의 영양문제가 없는 건강한 상태라고 볼 수 있다.

2. 영양소 섭취실태

조사대상자의 영양소 섭취량과 권장량에 대한 섭취

Table 1. Chromatographic condition for HPLC

Condition	L-Ascorbic acid	α-tocopherol	Retinol
Column	Cap cell pack 18 (Shimadzu)	Cap cell pack 18 (Shimadzu)	Cap cell pack 18 (Shimadzu)
Mobile phase	0.05MKH ₂ PO ₄ /Acetonitrile (60 : 40, v/v)	Acetonitrile/Methanol (75 : 25, v/v)	Acetonitrile/Methanol (75 : 25, v/v)
Detector	UV 254nm	Spectrofluorometric (Em 285nm, Ex325nm)	Spectrofluorometric (Em 340nm, Ex460nm)
Flow rate	0.5ml/min	2ml/min	1ml/min

Table 2. General characteristics of subjects

	Smoker	Non-smoker	Normal range ³⁾
Age(year)	22.86±0.94 ²⁾	22.43±1.04	
BMI(kg/m ²) ¹⁾	24.19±1.52	21.37±0.86	
Red blood cell(×10 ⁶ /mm ³)	5.05±0.11	5.19±0.07	4.2 - 6.3
Hemoglobin(g/dl)	15.78±0.34	15.91±0.25	13.0 - 17.0
Hematocrit(%)	46.73±1.01	47.11±0.70	38 - 54

1) BMI(Body Mass Index),

2) Mean ± SE,

3) Normal range of green cross reference lab for male

Table 3. Daily nutrient intakes and % RDA of subjects

Nutrients	Intake		% RDA	
	Smoker	Non-smoker	Smoker	Non-smoker
Energy(kcal)	3067.3±394.2 ¹⁾	2706.5±500.1	126.7±15.8	107.8±20.1
Carbohydrate(g)	416.4±56.1	363.6±73.9		
Fiber(g)	5.2±0.7	11.5±6.8		
Protein(g)	97.3±12.0	89.6±22.4	125.7±15.6	115.3±29.3
Fat(g)	96.5±14.0	73.4±13.9		
Vitamin A(μgRE)	545.7±138.4	1139.8±514.3	77.9±19.8	162.8±73.5
Vitamin B ₁ (mg)	1.9±0.5	1.6±0.4	142.6±35.4	122.2±34.3
Vitamin B ₂ (mg)	1.6±0.4	2.4±0.9	102.0±23.1	148.1±58.0
Niacin(mg)	15.7±2.5	17.2±4.1	92.2±14.7	100.7±24.4
Vitamin C(mg)	79.2±20.2	85.1±24.5	144.0±36.7	154.7±44.6
Calcium(mg)	650.0±196.1	637.2±179.0	99.2±28.0	88.1±25.8
Phosphate(mg)	1129.4±165.5	1201.9±316.4	161.3±23.6	167.3±46.0
Iron(mg)	13.9±1.4	26.7±13.3	111.5±11.0	211.5±11.9

1) Mean±SE

비율은 Table 3과 같다. 흡연과 비흡연군의 열량섭취는 3067.3kcal/day, 2706.5kcal/day로 유의적인 차이는 없으나 흡연자에게서 많은 경향이었다. 남학생을 대상으로한 박정아와 강명희²⁹⁾ 연구는 흡연자가 2463kcal/day, 비흡연자가 2303kcal/day를 섭취하며, 여대생을 대상으로한 김정희와 문정숙³⁰⁾의 연구에서는 흡연자가 2264kcal/day, 비흡연자가 2288kcal/day의 열량섭취한다고 보고하였다. 다른 연구들에서 흡연자의 경우 비흡연자에 비해 열량섭취량이 많거나³⁸⁾, 차이 없거나²⁴⁾³⁹⁾, 적다⁴⁰⁾는 상반된 보고들이 되고 있다. 그리고 흡연군은 비흡연군에 비해 탄수화물, 단백질, 지방, 비타민 B₁과 칼슘섭취가 유의적은 아니나 많은 경향이었으며, 비흡연군은 섬유소, 비타민 A, 비타민 B₂, 나이아신, 비타민 C, 인과 철분의 섭취가 많은 경향으로 흡연군은 열량영양소의 섭취가 많은 반면 비흡연군은 비타민과 무기질의 섭취가 높은 경향을 나타내었다. 지방의 섭취는 흡연자에서 많거나⁴¹⁾, 차이가 없었다²⁵⁾고 하며 흡연자는 비흡연자에 비해 비타민 A, 칼슘, 철분섭취량이 낮다고 보고²³⁾하고 있다. 본 연구에서는 1일의 식이섭취량만을 조사한 제한점을 가지고 있는데 조사기간을 연장하면 더욱 확실한 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각한다.

비타민 C 섭취량은 흡연군 79.2mg/day, 85.1mg/day으로 유의적은 아니지만 비흡연군에서 높은 경향이 었다. 우리 나라 남자대학생을 대상으로한 이성숙 등²⁹⁾은 흡연군 48.2mg/day, 비흡연군 68.4mg/day와 박정아와 강명희²⁹⁾는 흡연군 113.9mg/day, 비흡연군 106.3mg/day²³⁾를 섭취하고 있다고 보고하였다. Zoder van 등¹⁴⁾의 네덜란드 연구에서 하루에 담배를 피우는 양에 반비례하여 과일 섭취량이 감소하여 비타민 C의 섭취량이 낮았으며, 하루에 20개피 이상을 피우는 심한 흡연자는 비타민 C의 섭취가 비흡연자에 비해 60% 정도

Table 4. Antioxidant vitamin concentrations in plasma before and after vitamin C supplementation (mg/dl)

Vitamin		Smoker	Non-smoker
Vitamin C	Before	1.45±0.08 ^{1)*2)}	1.53±0.15
	After	1.88±0.07	1.85±0.15
Vitamin E (α-tocopherol)	Before	701.99±49.57	795.61±38.84
	After	700.77±66.72	767.21±86.59
Vitamin A (Retinol)	Before	102.31±7.76	115.17±6.47
	After	127.25±16.5	113.66±12.6

1) Mean±SE

2) * : Significantly different between before and after at p<0.05 by student t-test

낮았는데 이러한 경향은 여성보다 남성에서 더 뚜렷하였다고 한다. 그리고 권장량에 대한 비율을 살펴보면 흡연군에서는 비타민 A, 나이아신과 칼슘을, 비흡연군에서는 칼슘을 제외하고 다른 영양소들은 모두 권장량 이상으로 섭취하고 있었고 흡연에 따른 유의적인 차이는 없었다.

3. 혈장내 항산화 비타민 농도

혈장에서의 항산화 비타민인 비타민 C, 비타민 E(α-tocopherol)와 비타민 A(retinol)의 농도는 Table 4와 같다.

비타민 C의 경우, 비타민 C를 보충하기 전에 흡연군과 비흡연군은 각각 1.45mg/dl과 1.53mg/dl로 비흡연군이 높은 경향이었는데 정상범위인 0.6~2.0mg/dl(34~110μmole/l)⁴²⁾에 있었다. 비타민 C를 한 달간 보충한 후에는 흡연군의 경우 1.88mg/dl로 유의적인 증가를 하였고, 비흡연군도 1.85mg/dl로 증가하였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 즉, 흡연군이 비타민 C 보충으로 인해 비흡연군보다 내 비타민 C 농도 증가에 더 많은 영향을 받는 것으로 보인다.

남자대학생을 대상으로한 연구에서 혈장 비타민 C 농도는 흡연자 1.13mg/dl(64.3 μ mole/l), 비흡연자 1.41mg/dl(80.1 μ mole/l)로 흡연자가 20% 정도 낮았고²³⁾, 여대생의 경우는 흡연자가 0.79mg/dl, 비흡연자가 0.92mg/dl로 흡연자가 15% 정도 낮아³⁰⁾ 남자가 흡연으로 인한 비타민 C 감소가 컸으며, 30대 성인의 경우도 흡연자 52.8 μ mole/l, 비흡연자 57.1 μ mole/l로 흡연자에서 낮은 일관된 경향을 보이고 있다²⁴⁾. Faruque 등²⁵⁾의 연구에서는 흡연량이 많을수록 dose-dependent 하게 혈장내 비타민 C 농도가 낮았으며, Lykkesfeldt 등⁴³⁾은 흡연자는 총 비타민 C도 낮았지만 비타민 C중에서 산화형태인 dehydroascorbic acid(DHAA)가 차지하는 비율이 비흡연자에 비해 높았다고 하였다. 흡연으로 인해 혈장내 비타민 C가 낮은 것은 흡연에 의한 장기적인 산화 stress로 수용액상에서 free radical이 형성되면 비타민 C가 가장 먼저 방어작용에 사용되기 때문이다⁴⁴⁾. Lykkesfeldt 등⁴⁵⁾은 흡연자에게 담배를 끊게 하면, 항산화제의 소모가 적어짐으로서 혈액내 비타민 C 함량이 23.5% 증가하였다고 보고하였다.

비흡연자의 경우는 일상적인 식사에서 비타민 C 섭취에 따라 혈장의 비타민 C 농도가 증가하지만 흡연자에서는 이런 관계가 나타나지 않는데²⁵⁾, Schectmann 등⁴⁶⁾은 흡연자의 혈액내 비타민 C가 식이섭취량과 무관하게 비흡연자에 비해 낮은 것은 섭취부족보다는 흡연에 의해 비타민 C의 대사속도가 증가하기 때문이라고 하였고, Pelletier⁴⁷⁾는 하루에 담배를 20개피이상 피우는 경우에는 비타민 C 대사를 증가보다는 흡수율이 떨어지기 때문이라고도 하였다.

그리하여 Kallner 등⁴⁸⁾과 Hoeffl⁴⁹⁾은 흡연자는 비흡연자에 비해 40%이상의 섭취량이 요구된다고 하였고, Schetmann 등⁵⁰⁾은 하루에 200mg 이상을 섭취하면 흡연자와 비흡연자간의 혈장내 비타민 C 함량 차이가 없

어진다고 하였다. 본 연구에서도 비타민 C를 보충하기 전의 일상적인 비타민 C 섭취에는 혈장내 비타민 C 농도가 흡연군에서 낮은 경향이었으나 1g이라는 일상적인 섭취범위를 넘어선 많은 양을 보충한 후에는 두 군 모두 농도가 증가하고 흡연군에서 유의적인 차이를 보인 것은 비타민 C를 보충하는 것이 흡연으로 인한 혈장 비타민 C의 손실을 보상해 준 것으로 사료되며, 적절한 보충 양에 대해서는 앞으로 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각한다.

비타민 E(α -tocopherol)는 비타민 C 보충 전에 흡연군 701.99 μ g/dl, 비흡연군이 795.61 μ g/dl이었고, 비타민 C 보충 후에 각기 700.77 μ g/dl, 767.21 μ g/dl이었다. 즉, 흡연군이 비흡연군에 비해 낮은 경향이었고, 비타민 C 보충 후에 농도가 감소했으나 유의적이지는 않았으며 모두 정상범위인 0.5~1.2mg/dl에 속하였다⁵¹⁾. 흡연자의 경우 비타민 E의 섭취에 관계없이 혈장내 비타민 E의 수준은 감소한다고 보고되고 있는데⁴⁰⁾, 남자성인의 경우 흡연자의 혈청 농도가 0.9~1.0mg/dl이며 흡연정도가 많을수록 혈청의 중성지방에 대한 α -tocopherol량이 낮아지며⁵²⁾, 여대생의 경우 흡연자가 1.47mg/dl, 비흡연자가 2.27mg/dl로³⁰⁾ 흡연자에서 낮았다고 보고하고 있다. 노인에서 혈장 α -tocopherol은 흡연량과 음의 상관관계를 나타낸다고 하였다⁵⁴⁾. 그러나 흡연자에서 비타민 E의 농도가 비흡연자와 차이가 없다는 의견들도 있다⁵⁵⁾.

비타민 A(retinol) 농도는 비타민 C 보충 전에 흡연군이 낮은 경향이었고, 비타민 C 보충 후에는 흡연군에서 높아지고 비흡연군에서 낮아지는 경향을 나타내었으나 흡연과 비타민 C 보충에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. Retinol의 정상범위는 남자가 45~80 μ g/dl로⁴²⁾ 다른 연구에서도 흡연자와 비흡연자간에 혈장내 농도 차이가 없었다고 보고하고 있다³⁰⁾.

Table 5. White blood cell and subpopulation percentage before and after vitamin C supplementation

Items	Treatment	Smoker	Non-smoker	Normal range ²⁾
WBC($\times 10^3/mm^3$)	Before	6.08 \pm 0.23 ¹⁾	6.04 \pm 0.27	4.2 - 11.0
	After	6.37 \pm 1.56	7.36 \pm 0.67	
Lymphocyte(%)	Before	41.08 \pm 2.46	38.80 \pm 1.80	28 - 42
	After	43.00 \pm 2.83	36.33 \pm 4.86	
Neutrophil(%)	Before	47.58 \pm 2.76	49.00 \pm 2.33	45 - 60
	After	48.80 \pm 2.82	50.83 \pm 5.22	
Basophil(%)	Before	3.67 \pm 0.91	2.00 \pm 0.37	1 - 5
	After	1.67 \pm 0.67	5.00 \pm 1.15	
Eosinophil(%)	Before	0.17 \pm 0.11	0.40 \pm 0.16	0 - 1
	After	0.67 \pm 0.33	0.80 \pm 0.20	
Monocyte(%)	Before	7.75 \pm 0.64	6.80 \pm 0.57	4 - 8
	After	5.20 \pm 0.97	7.17 \pm 0.83	

1) Mean \pm SE,

2) Normal range of green cross reference lab for male

Handelmam등²⁶⁾은 지용성 비타민도 담배연기에 의해 파괴될 수 있다록 보고하였는데 본 연구에서도 흡연군이 비흡연군에 비해 혈장내 비타민 E와 A의 농도가 낮은 경향을 보였다. 비타민 C는 수용성환경에서, 비타민 E는 지용성부분에서 작용하지만 비타민 C는 산화된 α -tocopherol을 환원시켜 주어 비타민 E의 항산화역할을 도와주므로⁵⁷⁾ 비타민 C의 보충으로 인해 지용성 항산화비타민의 혈액내 농도가 증가할 것으로 예상할 수 있으나 C의 보충은 비타민 E 농도를 증가시키지 않았다. 한편 Brown등⁵⁸⁾은 α -tocopherol을 섭취시켰을 때 흡연자나 비흡연자의 혈장에서 α -tocopherol 보충량이 증가할수록 비타민 C 농도가 감소하였다고 보고하여 항산화 비타민 사이에 단순한 절약작용이 아닌 상호작용이 있는 것으로 보이며 이에 대한 연구가 필요하다고 생각한다.

Table 6. Percentage of lymphocyte subpopulation and natural killer cell before and after vitamin C supplementation

Items ¹⁾	Treatment	Smoker	Non-smoker
CD3(%)	Before	66.16±4.01 ²⁾	64.40±2.56
	After	62.22±3.82	58.46±3.93
CD4(%)	Before	28.39±2.65	35.60±2.35 ^{#)}
	After	31.66±2.53	28.11±2.36
CD8(%)	Before	36.23±4.61	27.10±2.13
	After	31.85±2.53	32.93±2.63
CD4/CD8	Before	0.88±0.16 ^{*3)}	1.42±0.17 ^{*#)}
	After	1.05±1.42	0.91±0.12
CD19(%)	Before	11.89±1.49	13.44±1.15
	After	11.30±1.11	10.93±1.31
CD56(%)	Before	9.01±1.79 [*]	8.67±1.40 [*]
	After	23.46±4.58	20.79±2.76

- 1) CD3 : total T cell, CD4 : helper T cell, CD8 : suppressor T cell, CD4/CD8 : helper/suppressor T cell ratio, CD19 : B cell, CD56 : NK cell
- 2) Mean±SE
- 3) * : Significantly different between before and after at p<0.05 by student t-test
- 4) # : Significantly different between smoker and non-smoker at p<0.05 by student t-test

Table 7. Immunoglobulin and complement C₃ concentration before and after vitamin C supplementation (mg/dl)

Items	Treatment	Smoker	Non-smoker	Normal range ²⁾
Ig A	Before	176.50±12.13 ¹⁾	204.10±23.31	100-490
	After	146.37±11.56	218.88±26.02	
Ig G	Before	1326.60±71.07	1480.00±80.15	800-1700
	After	1440.00±80.42	1517.50±60.02	
Ig M	Before	164.07±23.01	178.85±21.14	50-320
	After	172.21±29.33	198.14±27.24	
Complement C ₃	Before	66.60±5.23	71.25±4.23	50-90
	After	75.67±6.02	76.11±6.56	

- 1) Mean±SE,
- 2) Normal range of green cross reference lab for male

4. 백혈구의 백혈구 분획비율

백혈구 수와 백혈구 분획비율은 흡연과 비타민 C 보충에 의한 영향이 나타나지 않았다(Table 5).

백혈구 수는 흡연과 강한 상관관계를 가지고 있어 비흡연자에 비해 흡연자에서 절대수가 10~40% 많았고, 흡연량에 따라 dose-dependent하게 증가하며⁵⁹⁾, 흡연자의 경우 eosinophil수가 비흡연자에 비해 높다고 보고하고 있다⁶⁰⁾. 백혈구 수는 독성물질에 노출되었을 때 증가하는 것으로 흡연에 의해 호흡계에 여러 가지 독성물질의 노출되므로 백혈구 수가 증가한다고 설명하고 있다⁶¹⁾. 그러나 본 연구에서는 흡연과 비타민 C 보충이 백혈구 수와 백혈구 분획의 백분율에 큰 영향 주지 않았다.

5. 면역세포 분획

단클론항체(monoclonal antibody)를 이용하여 total T cell, T cell subpopulation, B cell 및 NK cell의 백분율을 측정된 결과는 Table 6에 수록하였다. Total T cell(CD3)은 흡연군에서 약간 높은 경향이아, 비타민 C 보충으로 인해 흡연과 비흡연군 모두에서 감소하는 경향을 보였다. 그리고 helper T cell(CD4)은 비타민 보충 전에는 흡연군에서 유의적으로 낮았으나 보충 후에는 흡연군과 비흡연군사이에 차이가 없어졌다. 그리고 helper/suppressor T cell ratio(CD4/CD8)는 보충 전에 흡연군이 0.88이고 비흡연군은 1.42로 유의하게 비흡연군에서 높게 나타났으나 보충 후에는 흡연군에서 비율이 높아지고 비흡연군에서 높게 나타났으나 보충 후에는 흡연군에서 비율이 높아지고 비흡연군에서는 감소하여 두 군간의 차이가 없어지는 결과를 보였다. B cell(CD19)은 흡연과 비타민 C 보충에 따른 유의적인 차이는 없었으나 NK cell(CD56)은 흡연과 비흡연군 모두에서 비타민 C 보충으로 인하여 유의적인 증가를 가져왔다.

흡연자에서 total T cell의 절대수와 백분율, helper T cell의 절대수가 증가한다는 보고⁶²⁾⁶³⁾와 변화하지 않는다는 보고⁶¹⁾가 있다. Suppressor T cell은 inter-

ferone- γ 를 분비시키며 pathogen에 대한 주요 방어기전을 가지고 있는데⁶⁴⁾ 하루에 20개피 이상을 피울 때 비흡연자에 비해 세포수가 증가한다거나⁶¹⁾ 차이가 없다⁶⁵⁾고 보고하고 있다. 그리고 Melisk등¹⁶⁾과 Mattoli등⁶⁴⁾은 흡연으로 인하여 helper/suppressor T cell ratio가 감소한다고 하여 본 연구결과와 일치하였다. 흡연으로 인한 T cell의 증가는 확실하지는 않으나 만성 흡연으로 인한 호흡계의 지역적인 염증 때문이거나 흡연에 의해 체내로 들어온 당단백질 같은 물질이 항원처럼 작용할 수 있기 때문이라고 한다⁶⁵⁾.

그리고 NK cell은 암 발생과 바이러스 감염에 저항을 주는 immunosuvelliance에서 중요한 역할을 하는데⁶⁶⁾ 흡연군과 비흡연군 모두에서 비타민 C 보충으로 NK cell 백분율이 유의하게 증가한 것은 비타민 C가 암발생을 예방하는 효과가 있다는 보고들³³⁾⁴¹⁾을 지지하고 있다.

6. 면역글로부린 및 보체 농도

혈장내 면역글로부린 A, G, M과 Complement C₃ 농

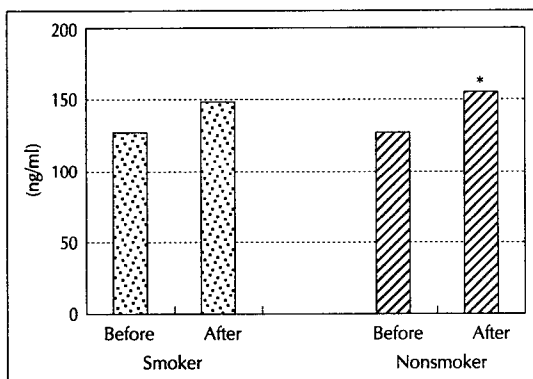


Fig. 1. IL-2 concentration in plasma before and after vitamin C supplementation.
* : significantly different between before and after at $p < 0.05$ by student *t*-test

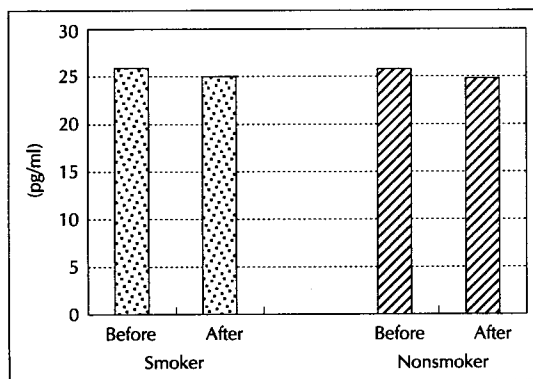


Fig. 2. Prostaglandin E₂ concentration in plasma before and after vitamin C supplementation.

도는 흡연군에서 낮은 경향을 보였고, 비타민 C 보충으로 인해 Ig A를 제외하고 면역글로부린 과 보체의 농도가 증가하는 경향이었으나 유의하지는 않았다(Table 7).

흡연으로 인하여 성인에서 혈청 Ig A, G, M이 감소하였으며¹⁶⁾⁶⁶⁾, 비타민 C와 E의 보충은 노인에서 혈청 Ig G와 C₃ 농도를 증가시켰다고 하였고¹²⁾, Ziemiński는¹¹⁾ 하루에 400mg의 비타민 C를 4~12개월을 섭취시켰을 때 혈장내 Ig G, M, C₃가 증가하였다고 하였다.

7. Interleukin-2와 Prostaglandin E₂ 농도

혈장내 interleukin-2(IL-2)의 농도는 흡연군과 비흡연군간에 차이가 없었으며 비타민 C 보충으로 비흡연군에서 유의적인 증가를 하였다(Fig. 1).

Cytokine은 일련의 polypeptide messenger molecule로서 현재까지 12가지 이상의 cytokine이 규명되었는데⁶⁷⁾, IL-2는 T cell에서 분비되는 glycosylated 단백질로 helper T cell의 합성과 지속적인 증식에서 결정적인 역할을 하며⁶⁸⁾, IL-2의 분비가 적으면 림프구 증식이 억제된다⁶⁹⁾. 본 연구에서 비타민 C 보충으로 비흡연군에서 IL-2 농도가 증가한 것은 비타민 C 보충이 면역능력향상에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각한다.

Prostaglandin E₂(PGE₂) 농도는 흡연군이 비흡연군에 비해, 비타민 C 보충 전에 약간 높은 경향이었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 2). PGE₂는 IL-2의 생산을 억제하고, 림프구의 증식을 억제하여 일반적으로 면역능력을 감소시키는 물질로 알려져 있다⁷¹⁾⁷²⁾. 흡연이 PGE₂ 생산에 어떻게 작용하는지에 대해서는 확실하게 알려져 있지 않으나 금연을 시키면서 nicotine을 투여하였을 때 PGE₂의 생산이 감소되지 않은 것으로 보아⁷³⁾ nicotine에 의해 분비된 adrenalin과 noradrenalin같은 cathcholamin이 eicosanoid 생산을 자극하며⁷⁴⁾, nicotine에 의해 분비가 자극된 serotonin이 cyclooxygenase 생성을 증가시킨다고 한다⁷⁵⁾. 성인에게 비타민 C, 비타민 E, 비타민 C+E를 주었을 때 비타민 E, E+C군에서는 PBMCs에서의 PGE₂ 농도가 감소하였으나 비타민 C만을 섭취한 군에서는 차이가 없었고¹²⁾, 본 연구에서도 흡연과 비타민 C 보충은 혈장 PGE₂ 농도에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

요약 및 결론

본 연구는 비타민 C의 보충이 흡연자와 비흡연군에서 면역능력에 어떠한 영향을 주는지에 알아보는 것을 목적으로 시도되었다. 흡연군은 열량과 열량영양소의 섭취가 많은 반면 비흡연군은 비타민과 무기질의 섭취가 많은 경향이었고, 비타민 C의 섭취량은 흡연자에

서 낮은 경향이였다. 흡연군이 비흡연군에 비해 혈장내 비타민 C, E, A의 농도가 낮은 경향이었는데 비타민 C의 보충으로 흡연군에서 혈장 비타민 C 농도가 유의적으로 증가하였으나 비타민 E와 A 농도에는 비타민 C의 보충이 영향을 주지 않았다. 흡연군에 있어 helper/suppressor T cell ratio가 낮았으나 비타민 C 보충으로 유의적인 증가를 하였다. 그리고 NK cell의 비율은 비타민 C 보충으로 인해 흡연과 비흡연군 모두에서 유의적인 증가를 가져왔다. 또한 혈장내 IL-2 농도는 비타민 C 보충으로 인하여 비흡연군에서 농도가 증가하였다. 혈장내 면역글로부린 A, G, M과 Complement C₃ 농도는 비흡연군에 비해 흡연군에서 낮은 경향이었고, 비타민 C 보충으로 Ig A를 제외하고 증가하는 경향이였으나 유의적이지는 않았다. PGE₂와 백혈구 수 및 백혈구 분획의 백분율은 흡연과 비타민 C 보충에 의한 영향을 받지 않았다.

결론적으로 비타민 C 보충은 흡연군에서 혈액내 비타민 C 농도를 유의적으로 증가시켰으며, 흡연자와 비흡연자에서 NK cell의 백분율증가와 비흡연군에서 IL-2 농도 증가를 가져왔다. 그러므로 비타민 C의 보충이 흡연군과 비흡연군 모두에게 면역능력 향상에 도움을 줄 수 있을 것으로 보인다. 그리고 앞으로 흡연량에 따른 연구와 비타민 C 보충이 끝난 후에 보충 효과가 어느 정도 지속되는지에 대한 연구 등이 필요하다고 생각한다.

Literature cited

- 1) Weber C, Erl W, Weber K, Weber PC. Increased adhesiveness of isolated monocytes to endothelium is prevented by vitamin C intake in smokers. *Circulation* 93 : 1488-1492, 1996
- 2) Halliwell B, Wasil M, Grootveld M. Biologically significant scavenging of the myeloperoxidase-derived oxidant hypochlorous acid by ascorbic acid. *FEBS Lett* 213 : 15-17, 1987
- 3) Frei B. Ascorbic acid protects lipids in human plasma and low density lipoprotein against oxidative damage. *Am J Clin Nutr* 54 : 1113-1118, 1991
- 4) Frei B, England L, Ames BN. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 6377-6381, 1989
- 5) Blumberg JB. Vitamins. In : Diet, Nutrition, and immunity. Forse RA ed. CRC Press, Inc. 1994
- 6) Anderson R, Smit MJ, Joone GK. Vitamin C and cellular immune functions. *Ann NY Acad Sci* 587 : 34-48, 1990
- 7) Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 85 : 9748-9752, 1988
- 8) Anderson R, Oostuigen R, Martiz R. The effect of increasing weekly doses of ascorbate on certain cellular and humoral immune functions in normal volunteers. *Am J Clin Nutr* 33 : 71-76, 1980
- 9) Keens B, Dumont L, Brohee D. Effect of vitamin C supplementation on cell-mediated immunity in old people. *Gerontology* 29 : 305-312, 1983
- 10) Panush RS, Delafuente JC, Katz P. Modulation of certain immunologic responses by vitamin C. III Potentiation of in vitro and in vivo lymphocyte responses. *Int J Vit Nutr Res* 23 : 35-47, 1982
- 11) Ziemiński S, Wartanowicz M, Kios A. The effects of ascorbic acid and alpha-tocopherol supplementation on serum proteins and immunoglobulin concentrations in elderly. *Nutr Int* 2 : 1-10, 1986
- 12) Jeng KCG, Yang CS, Siu WY, Tsai YS, Liao WJ, Kuo JS. Supplementation with vitamin C and E enhances cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 64 : 960-965, 1996
- 13) Yong LC, Brown CC, Schatzkin A, Dresser CM, Slesinski MJ, Cox CS, Taylor PR. Intake of vitamin E, C, and A and Risk of lung cancer. *Am J Epidemiol* 146 : 231-243, 1997
- 14) Zondervan KT, Ocke MC, Smit HA, Seidell JC. Do dietary and supplementary intakes of antioxidants differ with smoking status? *Int J Epidemiol* 25 : 70-79, 1996
- 15) US department of health and human services(DHHS). Reducing the health consequences of smoking : 25 years of process. A report of the surgeon general. Rockville, MD : Department of health and human services, 1989. [DHHS publication no.(CDC) 89-8411]
- 16) Meliska CJ, Stunkard ME, Gilbert DG, Jensen RA, Martinko JM. Immune function in cigarette smokers who quit smoking for 31 days. *J Allergy Clin Immunol* 95 : 901-910, 1995
- 17) Geng Y, Savage SM, Razani-Boroujerdi S, Sopori ML. Effects of nicotine on the immune response. II Chronic nicotine treatment induces T cell anergy. *J Immunol* 156 : 2384-2390, 1996
- 18) Nair MPN, Kronfol ZA, Schwartz SA. Effects of alcohol and nicotine on cytotoxic functions of human lymphocytes. *Clin Immunol Immunopath* 54 : 395-409, 1990
- 19) Caggiula AR, McAllister CG, Epstein LH. Nicotine suppresses the proliferative response of peripheral blood lymphocytes in rats. *Drug Dev Res* 26 : 473-479, 1992
- 20) Meliska CJ, Gilbert DG. Hormonal and subjective effects of smoking the first five cigarettes of the day : A comparison in males and females. *Pharmacol Biochem Behav* 40 : 229-235, 1991
- 21) Lindermann RA, Park NH. The effects of benzo(a)pyrene,

- nicotine and tobacco-specific N-nitrosoamines on the generation of human lymphokine-activated killer cells. *Arch Oral Biol* 34 : 283-287, 1989
- 22) Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico SD. Vitamin E, C, and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and non-smokers. *Atherosclerosis* 112 : 91-99, 1995
 - 23) Park JA, Kang MH. Vitamin C intakes and serum levels in smoking college students. *Kor J Nutr* 29 : 122-133, 1996
 - 24) Yoon GA. Changes of vitamin C level, lipid peroxidation and lipid concentration in plasma of smokers and non-smokers. *Kor J Nutr* 30 : 1180-1187, 1997
 - 25) Faruque MO, Khan MR, Rahman M, Ahmed F. Relationship between smoking and antioxidant nutrient status. *Br J Nutr* 73 : 625-632, 1995
 - 26) Handelman GJ, Packer L, Cross CE. Destruction of tocopherol, carotenoids, and retinol in human plasma by cigarette smoke. *Am J Clin Nutr* 63 : 559-565, 1996
 - 27) Margetts BM, Jacson AA. The determinants of plasma β -carotene : Interaction between smoking and other life-style factors. *Eur J Clin Nutr* 50 : 236-238, 1996
 - 28) Diplock AT. Safety of antioxidant vitamins and β -carotene. *Am J Clin Nutr* 62 : 1510S-1516S, 1995
 - 29) Lee SS, Choi IS, Lee KH, Choi UJ, Oh SH. A study on the nutrients intake and serum lipid pattern in smoking college men. *Kor J Nutr* 29 : 489-498, 1996
 - 30) Kim JH, Moon JS. A study of dietary and nutritional status on college women smokers-II Assessment of nutritional status for antioxidant vitamins. *Kor J Comm Nutr* 2 : 159-168, 1997
 - 31) Par SM, Yu JG, Ann SH. Effect of smoking on the levels of antioxidant vitamins and enzymes in healthy and young men. *J Kor Diet Assoc* 4 : 168-177, 1998
 - 32) Cho SS, Kang MH. The variation of the SCE frequency of human lymphocytes by smoking habits and dietary factors in college student. *Kor J Nutr* 26 : 313-324, 1993
 - 33) Ministry of health and welfare. Official methods of food analysis. 1995
 - 34) Sternberg JC. A rate nephelometer for measuring specific proteins by immunoprecipitate reaction. *Clin Chem* 23 : 1456-1464, 1977
 - 35) Lee RD, Nieman DC. Nutritional assessment. 2nd ed. Mosbey 1996
 - 36) Gordon T, Kannel WB, Dawber TR, McGee D. Changes associated with cigarette smoking : The Framingham study. *Am Heart J* 90 : 322-328, 1975
 - 37) Wack JT, Rodin J. Smoking and its effects on body weight and systems of caloric regulation. *Am J Clin Nutr* 35 : 366-380, 1982
 - 38) Strickland D, Graves K, Lando H. Smoking status and dietary fats. *Pre Med* 21 : 228-236, 1992
 - 39) Haste FM, Brooke OG, Anderson HR, Bland JM, Peacock JL. Social determinants of nutrients intake in smokers and non-smokers during pregnancy. *J Epid Comm Health* 44 : 205-209, 1990
 - 40) Larkin FA, Basiotis PP, Riddick HA, Sykes KE, Pao EM. Dietary pattern of women smokers and nonsmokers. *J Am Diet Assoc* 90 : 230-237, 1990
 - 41) Giraud DW, Martin D, Driskell JA. Plasma and dietary vitamin C and E levels of tobacco chewers, smokers, and nonusers. *J Am Diet Assoc* 95 : 798-800, 1995
 - 42) Pesce AJ, Kaplan LA. Methods in clinical chemistry. The CV Mosby-Company, St. Louis, Washington DC, Toronto, 1987
 - 43) Lykkesfeldt J, Loft S, Nielsen JB, Poulsen HE. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid as biomarkers of oxidant stress caused by smoking. *Am J Clin Nutr* 65 : 959-963, 1997
 - 44) Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico SD, Calafiore AM, Costanini F, Riaro-Sforza G, Imbastaro T, Neri M, Cucurullo F. Vitamin E, C and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and non-smokers. *Atherosclerosis* 112 : 91-99, 1995
 - 45) Lykkesfeldt J, Prieme H, Loft Steffen, Poulsen HE. Effect of smoking cessation on plasma ascorbic acid concentration. *Br Med J* 313 : 91-92, 1996
 - 46) Schectmann G, Byrd JC, Gruchow HW. The influence of smoking on vitamin C status in adults. *Am J Public Health* 79 : 158-162, 1989
 - 47) Pelletier O. Vitamin C and tobacco. *Int J Vit Nutr Res Suppl* 16 : 147-170, 1977
 - 48) Kallner AB, Hatman D, Hornig DH. On the require of ascorbic acid in man : Steady state turnover and body pool in smokers. *Am J Clin Nutr* 34 : 1347-1355, 1981
 - 49) Hoeffl OS. Plasma vitamin C levels in smokers. *Int J Vit Nutr Res Suppl* 16 : 127-137, 1977
 - 50) Schectmann G, Byrd JC, Hoffman R. Ascorbic acid requirements for smokers : Analysis of a population survey. *Am J Clin Nutr* 53 : 1466-1470, 1991
 - 51) National Research Council. Recommended dietary allowance, 9th ed
 - 52) Bolton-smith C, Casey CE, Gey KF, Smith WC, Tunstall-Pedoe H. Antioxidant intakes assessed using a food-frequency questionnaire : Correlation with biochemical status in smokers and nonsmokers. *Br J Nutr* 65 : 337-346, 1991
 - 53) Cho SH, Choi YS. Relation of serum vitamin E and lipoperoxide levels with serum lipid status in Korean men. *J Comm Nutr* 2 : 44-51, 1997
 - 54) Herbeth B, Chavance M, Musse N, Mejean L, Vernhes G. Dietary intake and other determinant of blood vitamins in an elderly population. *Eur J Clin Nutr* 43 : 175-186,

1989

- 55) Chow CK, Thacker RR, Changchit C, Bridges RB, Rehm SR, Humble J, Turbek J. Lower levels of vitamin C and carotenes in plasma cigarette smokers. *J Am Coll Nutr* 5 : 305-312, 1986
- 56) Stryker WS, Kaplan LA, Stein EA, Stampfer MJ, Sober A, Willett WS. The relation of diet, cigarette smoking and alcohol consumptions to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. *Am J Epid* 127 : 283-296, 1988
- 57) Niki E, Noguchi N, Tsuchihashi H, Gotoh N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and β -carotene. *Am J Clin Nutr* 62 : 1323S-1326S, 1995
- 58) Brown KM, Morrice PC, Duthie GG. Erythrocyte vitamin E and plasma ascorbate concentrations in relation to erythrocyte peroxidation in smokers and nonsmokers : Dose response to vitamin E supplementation. *Am J Clin Nutr* 65 : 496-502, 1997
- 59) Freeman DS, Joesoef R, Barboriak JJ, Stallone DD, Byers T. Correlates of leukocyte counts in men. *Ann Epid* 6 : 74-82, 1996
- 60) Hatch GE. Asthma, inhaled oxidants, and dietary antioxidants. *Am J Clin Nutr* 61 : 625S-630S, 1995
- 61) Sunyer J, Munoz A, Peng Y, Margolick J, Chmiel JS, Oishi J, Kingsley L, Samet JM. Longitudinal relation between smoking and white blood cell. *Am J Epid* 144 : 734-741, 1996
- 62) Schaberg T, Theilacker C, Nitschke OT, Lode H. Lymphocyte subsets in peripheral blood and smoking habits. *Lung* 175 : 387-394, 1997
- 63) Inoue C, Takeshita T, Kondo H, Morimoto K. Healthy lifestyle are associated with higher lymphokine-activated killer cell activity. *Pre Med* 25 : 717-724, 1996
- 64) Mattoli S, Kleimberg J, Stacey MA, Bellini A, Sun G, Marini M. The role of CD8⁺ Th2 lymphocytes in the development of smoking-related lung damage. *Biochem Biophys Res Comm* 239 : 146-149, 1997
- 65) Tanigawa T, Araki S, Nakata A, Sakurai S. Increase in the helper inducer(CD4⁺CD29⁺) T lymphocytes in smokers. *Indust Health* 36 : 78-81, 1998
- 66) Mcmillian SA, Douglas JP, Archbold GPR, McCrum EE, Evans AE. Effect of low to moderate levels of smoking and alcohol consumption on serum immunoglobulin concentration. *J Clin Pathol* 50 : 819-822, 1997
- 67) Meydani SN. Dietary modulation of cytokine production and biologic functions. *Nutr Review* 48 : 361-369, 1990
- 68) Yagoob P, Carder PC. The effect of fatty acids on lymphocyte functions. *Int J Biochem* 12 : 1705-1720, 1993
- 69) Calder PC, Bond JA, Bevan SJ, Newsholme EA. Unsaturated fatty acids inhibit interleukin-2 production by concanavalin A-stimulated lymphocytes. *Proc Nutr Soc* 50 : 171-181, 1991
- 70) Devi MA, Das NP. Antiproliferative effects of polyunsaturated fatty acid and interleukin-2 on normal and abnormal human lymphocytes. *Experientia* 50 : 489-492, 1994
- 71) Gordon D, Bray MA, Morley J. Control of lymphokine secretion by prostaglandin. *Nature* 262 : 401-402, 1976
- 72) Goodwin JS, Mesner RP, Peake GT. Prostaglandin suppression of mitogen-stimulated lymphocytes in vitro. Changes with mitogen dose and preincubation. *J Clin Invest* 62 : 753-760, 1978
- 73) Ritutta A, Saareks V, Mucha I, Alanko J, Parviainen M, Vapaatalo H. Smoking cessation and nicotine substitution modulate eicosanoid synthesis ex vivo in man. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Phar* 352 : 102-107, 1995
- 74) Benowitz NL. Nicotine and coronary heart disease. *Trends Cardiovasc Med* 1 : 315-321, 1991
- 75) Sih CJ, Takeguchi C, Foss P. Mechanism of prostaglandin biosynthesis III. Catecholamines and serotonin as coenzymes. *J Am Chem* 92 : 6670-6676, 1970