

## 노인에서 비타민 E 보충이 면역능력과 항산화상태에 미치는 영향

김 우 경

단국대학교 식품영양학과

### Effects of Vitamin E Supplementation on Immune Response and Antioxidant Defense Parameters in Healthy Korean Elderly Women

Woo-Kyung Kim

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

#### Abstract

This study investigated the effects of vitamin E supplementation on immune responses and antioxidant status in healthy Korean old and young women. Blood samples were obtained from 15 healthy old women (over 60 years old) and from 15 healthy young women (20 years old) before and 4 weeks after vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol acetate) supplementation (400IU/day). Daily nutrient intakes were calculated, and plasma vitamin E concentration, numbers and percentages of white blood cell and their subpopulation, percentages of lymphocytes and subpopulation, NK cell percentages, plasma immunoglobulin A, G, M and C<sub>3</sub> concentration, proliferation of PMN with mitogen were measured. Also plasma TBARS concentration and radical scavenger activity of erythrocytes were investigated. Plasma vitamin E concentrations were significantly increased after supplementation in both groups. In elderly women, vitamin E supplementation restored the percentages of neutrophils, lymphocytes, and eosinophils which had been out of normal ranges before supplementation. And after vitamin E supplementation, helper T-cell percentages significantly increased in elderly. Plasma immunoglobulin and complement C<sub>3</sub> concentrations were not affected by vitamin E supplementation in both groups. PMN proliferations with mitogen were significantly lower in old women than in young women, and there was no effect of vitamin E supplementation. Vitamin E supplementation significantly decreased plasma TBARS concentrations in old and young women. RSA of erythrocytes was increased in both groups, but the statistical significant was only found in young women group. Therefore, these results suggest that the moderate vitamin E supplementation in old women improves immune responses, especially nonspecific immunity and cell mediated immunity, via protection of oxidant stress.

**Key words:** vitamin E, immune responses, antioxidant status

#### 서 론

면역반응이란 동물 체내에 존재하는 자기 방어체계로서 외부로부터 침입해오는 각종물질이나 생명체를 자기 자신과 구별해 내어 침입자를 제거하는 복잡한 생물학적인 현상이다(1). 면역능력이 파괴되면 미생물에 의한 감염이 증가하고 더욱이 암세포와 같은 개체 내에서 생기는 이상세포를 제거하는 능력이 약화된다. 특히 나이가 증가함에 따라 체액성 면역보다는 세포 매개성 면역능력이 감소하므로(2,3) 노인기에 암과 같은 만성 퇴행성질환의 원인을 제공할 수 있다. 노인에서의 면역능력 감소는 흉선의 퇴화, T-세포 및 분획 세포의 절대적인 수나 상대적 비율의 변화, T-세포 표면 인자의 변화, 나이에 따른 eicosanoids들의 생성변화, 면역세포 수용체의 변화 등으로

설명하고 있다(4,5). 그러므로 노인인구가 증가되고 있는 요즘 노인의 면역능력에 영향을 줄 수 있는 영양소의 영향을 살펴보는 것은 매우 의미 있는 일이라고 하겠다.

면역능력에는 많은 영양소가 작용하지만 면역능력에 관여하는 세포들의 세포막에는 특별히 불포화지방산을 많이 함유하고 있고, 작용과정에서 활성화된 중간물질에 많이 노출되므로 적절한 농도의 항산화영양소는 면역능력에 필수적이다. 즉 체내 산화-항산화 균형은 세포막, 세포 내 단백질, 핵산의 구조적, 기능적으로 유지, 신호전달, 유전자표현 등에 영향을 주어 면역능력을 유지하는데 중요한 역할을 한다(6-8).

항산화비타민 중 비타민 E와 면역능력과 관계는 많은 중에서 관찰되었고, 비타민 E의 섭취 부족은 면역세포 수의 손실을 가져오고, 세포매개성 면역 기능이 감소되

<sup>§</sup>이 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

며, 반대로 권장량 이상으로 섭취하면 면역능력을 향상시킨다고 한다(9). 그리고 역학조사에 의하면 혈액내 비타민 E 양과 피부 지연성 과민반응은 양적인 상관관계를 보이고, 다른 감염에는 음의 상관관계를 보였다고 보고하였다(10,11).

모든 나이에서 항산화영양소를 체내 적절한 농도로 유지하는 것이 중요하지만 특히 나이가 들면 산화적 스트레스가 증가하므로 건강을 유지하고, 만성질환을 예방하기 위해 항산화영양소의 섭취는 더욱 중요한 의미를 가진다. 그러므로 본 연구는 대학생을 대조군으로 하여 노인의 비타민 E 보충이 나이 증가에 따른 면역능력의 변화와 체내 항산화상태에 어떠한 영향을 미치는지 알아보는 것을 목적으로 하였다.

## 내용 및 방법

### 연구대상

본 연구는 항산화비타민 보충이 면역능력에 미치는 영향을 나이에 따라 알아보는 것으로, 이를 위해서 질병이 없고 외관상으로 건강해 보이는 흡연을 하지 않은 평균 나이가 20세인 여대생 15명과 63.3세인 노인여성 15명을 대상으로 하였다. 대상자의 체중과 신장을 측정하였으며 측정된 체중과 신장으로 체질량지수를 구하였다.

### 비타민 E 투여량 및 기간

비타민 E는  $\alpha$ -tocopherol acetate 형태로 하루에 400 IU을 4주간 섭취하도록 하였다. 이 양은 1일 1번 복용하도록 권장하고 있는 비타민 보충제의 1 tablet에 들어 있는 양이다. 비타민 E는 많이 섭취하였을 때 다른 지용성 비타민에 비해서 과잉증이 잘 나타나지 않는 것으로 알려져 있고, 사람을 이용한 비타민 E 보충 효과에 대한 다른 실험들에서도 하루에 300~1600 IU을 섭취시켰으므로 이 양은 안정한 것으로 사료된다(8).

### 식사섭취량 조사

비타민 투여 전후에 3일간의 섭취한 음식의 양과 종류를 24시간 기억회상법과 기록법으로 조사하여 한국영양학회에서 개발한 영양소 환산프로그램으로 영양소 섭취량을 계산하였다. 조사대상자들은 질병치료를 위한 약물이나 기타 영양보충제를 복용하고 있지 않았다.

### 혈액 채취

비타민 E 보충 전후에 12시간 금식 후의 공복혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 전혈 상태로 백혈구와 면역세포 분획, 면역세포 증식능력, radical scavenger activity (RSA)는 당일 실시하였으며, 나머지 혈액은 즉시 원심

분리하여 혈장을 얻은 후 다른 생화학적 실험을 행하기 전까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

## 생화학적 실험방법

### 혈장 비타민 E 농도 측정

혈장 비타민 E는 혈장내  $\alpha$ -tocopherol의 함량을 UV detector를 가진 HPLC를 이용하여 측정하였다(12).

### 혈장 지질성분

혈장 내 총 지방과 총 콜레스테롤(영동제약), 중성지방(영연화학, 일본)은 효소법에 의한 kit를 이용하여 측정하였다.

### 면역실험

#### ① 백혈구 수 및 분획 비율

전혈을 이용하여 백혈구 수 및 백혈구 분획의 백분율(neutrophils, lymphocytes, monocyte, eosinophil, basophil, monocyte)은 coulter counter(STKS 660595, USA)로 측정하였다.

#### ② 면역세포 분획

단일클론항체(monoclonal antibody)를 이용하여 면역세포의 분획을 측정하였다. 전혈 100 $\mu$ l에 항체로 total T-cell은 CD3+, helper T-cell은 CD4+, suppressor T-cell은 CD8+, B-cell은 CD19+, natural killer cell(NK cell)은 CD56+을 각기 20 $\mu$ l씩 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 saline(PBS)으로 두 번 세척한 후에 세포 10,000개당 항체와 결합한 세포 수를 flow cytometer(FACScan, Becton Dickinson, USA)를 이용하여 측정 후 백분율로 나타내었다.

#### ③ 면역세포의 증식능력측정

멸균된 원심분리관에 밀도용액(Nycomed, 1.077 $\pm$ 0.001 g/ml)을 4ml 넣고 그 위에 전혈을 조심스럽게 4ml 넣고 원심 분리하여 polymonuclearcell(PMN)층을 얻었다. RPMI 1640배지(Gibco)로 2번 세척한 후 10% fetal bovine serum이 포함된 RPMI 1640 배지에  $2.5 \times 10^6$  cell/ml가 되도록 세포 수를 맞추었다. 96 well plate에 세포 수를 맞춘 배지를 well당 100 $\mu$ l씩 분주하고, mitogen으로 ConA (concanavalin A, sigma)를 0.75 $\mu$ g/10 $\mu$ l, PHA(phytohemagglutinin, sigma), PWM(pokeweed mitogen, Gibco)을 10 $\mu$ g/10 $\mu$ l씩 첨가하였고, control well에는 mitogen 대신에 배지를 첨가하였으며 모든 시료는 3회 반복하였다. 분주가 끝난 plate는 37 $^{\circ}\text{C}$  CO<sub>2</sub> incubator에서 68시간 배양한 후에 모든 well에 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium, sigma: 5mg/ml PBS)를 10 $\mu$ l씩 분주하고, 4시간 더 배양하여 총 72시간을 배양하였다. 배양이 끝난 후에 배양액을 제거하고 각 well에 DMSO

(dimethylsulfoxide, sigma)를 150 $\mu$ l씩 분주한 후 30분간 진탕하여 세포를 녹인 후에 ELISA reader로 492nm에서 흡광도를 측정하였다. Stimulation index는 다음과 같이 계산하였다.

Stimulation index =

$$\frac{\text{Mitogen을 넣은 well의 흡광도}}{\text{Mitogen을 넣지 않은 well의 흡광도}}$$

④ Immunoglobulin G, A, M과 Complement C<sub>3</sub> 측정  
혈장내 면역 글로불린 A, G, M과 Complement C<sub>3</sub>는 rate nephelometry법(13)에 의해 측정하였다.

항산화상태

① Radical scavenging activity(RSA) 측정(14)  
전혈을 원심 분리하여 혈장을 제거한 후 적혈구의 22% 희석액을 만든 다음 동량의 400mM의 AAPH(2,2- azobis dihydrochloride)를 혼합시켰다. 혼합 즉시 일정량을 취하고 나머지는 37°C shaking water bath에서 배양시키면서 일정시간마다 일정량의 시료를 취하였다. 취한 시료는 생리적 식염수에 10배 희석한 후 4,000rpm에서 10분간 원심 분리하고, 상등액을 취하여 UV spectrophotometer 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 최고의 흡광도를 최대용혈시간으로 보고 최대용혈의 50%의 흡광도를 보인 시간을 RSA로 하였다.

② 혈장내 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) 측정

혈장에 1/12N 황산과 10% phosphotungstic acid를 넣고 5분간 방치한 후 3,000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액은 버리고 이 과정을 한번 더 반복하였다. 얻어진 침전물에 증류수와 thiobarbituric acid(TBA) reagent를 가하여 잘 섞은 후 뚜껑을 단단히 막고 95°C water bath에서 한 시간 incubation시켰다. N-butanol을 가하여 격렬하게 섞은 후 3,000rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층액을 flurospectrophotometer(LS 50)로 Ex 515nm, Em 553nm에서 비색 정량하였다.

자료 정리 및 통계처리

실험결과는 PC용 통계프로그램인 SAS(statistical analysis system)를 이용하여 조사대상자의 비타민 E 보충 전후의 실험결과의 평균과 표준 오차를 구하였다. 조사대상자의 일반사항은 student t-test를 실시하였으며, 나이와 비타민 E 보충 효과를 알아보기 위하여 2-way ANOVA 검정을 하였다. 그리고 군간의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

조사대상자의 일반사항

본 연구에 참여한 대상자의 일반사항은 Table 1에 제

Table 1. General characteristics of subjects

	Young women	Old women
Age(year)	20.0 $\pm$ 0.0 <sup>2)</sup>	63.3 $\pm$ 1.1*
Height(cm)	160.0 $\pm$ 1.3	154.4 $\pm$ 0.9*
Weight(kg)	54.0 $\pm$ 1.7	58.5 $\pm$ 1.4*
BMI <sup>1)</sup>	21.1 $\pm$ 0.8	24.5 $\pm$ 0.5*

<sup>1)</sup>BMI(body mass index)=height(kg)/weight(m<sup>2</sup>)

<sup>2)</sup>Mean $\pm$ SE

\*Significantly different between young and old women at p<0.05 by student t-test

시하였다. 대조군인 젊은 여성은 대학교 2학년에 재학하는 학생으로 모두 20세였으며, 노인 여성은 연령이 60~72세의 범위를 가지고 있었으며 평균 나이는 63.3세였다. 신장과 체중은 대조군 160.0cm, 54.0kg, 노인 154.4cm, 58.5kg으로 신장은 대조군에서 컸고, 체중은 노인군에서 무거웠다. 그러므로 체질량지수는 노인군이 24.5로 대조군의 21.1보다 유의적으로 높았다. 이는 나이증가에 따른 체중증가에 의한 체질량지수의 증가로 보아지나 두 군 모두 정상체중범위(20~25)(15)에 있어 체질량 지수의 차이가 다른 생화학적 실험 결과에 영향을 주지는 않은 것으로 생각한다. 그리고 표로는 제시하지 않았으나 비타민 E 보충 전후로 대조군이나 노인군에서 에너지와 다른 모든 영양소의 섭취에 차이가 없어 비타민 E 보충 이외에 다른 영양소의 섭취 변화는 없는 것으로 사료된다.

## 혈장 비타민 E 농도 변화

혈장내 비타민 E 농도는 노인군이 대조군에 비해 유의적으로 높았으며 비타민 E를 보충하면 유의적인 증가를 보였다. 비타민 E를 혈장내 지방성분에 대한 비로 표현하면 총 지방으로 나누었을 때는 절대량과 같은 경향이 있었으나 중성지방, 총 콜레스테롤로 나누었을 때는 나이에 따른 차이는 없었고, 비타민 E 보충으로 증가하였다(Table 2). Kim(16)은 혈장내 비타민 E 농도가 20~30대 여성이 940 $\mu$ g/dl, 60세 이상 여성노인은 1,100 $\mu$ g/dl로 대학생의 경우는 20~30대의 결과보다 낮았으나 60대에서는 비슷하였고, 나이증가에 따라 비타민 E 농도가 증가하는 경향이 일치하였다. 비타민 E는 혈액내 지방성분과 함께 이동하여, 혈액 내 비타민 E 양은 중성지방, LDL-콜레스테롤 양과 양의 상관관계가 보고되고 있어 비타민 E 영양상태는 비타민 E의 절대량보다는 지방성분에 대한 비율로 표현할 때 정확하게 파악할 수 있다(17,18). 본 연구에서 총 지방량으로 나누었을 때는 나이에 따라 증가하나 다른 성분에서는 나이에 따른 차이가 없어 나이증가에 따른 지방성분 증가가 혈액내 비타민 E 증가를 가져온 것을 알 수 있다.

## 면역능력

백혈구 수 및 분획 비율

혈액내 백혈구 수는 비타민 E 보충 후에 대조군이나

Table 2. Vitamin E status

		Young women	Old women	Significant factor <sup>3)</sup>
α-Tocopherol(μg/dl)	Before	683.5±18.8 <sup>1)c2)</sup>	1118.6±92.8 <sup>b</sup>	Age <sup>***</sup> , VE <sup>***</sup>
	After	1318.0±5.4 <sup>b</sup>	1903.3±208.3 <sup>a</sup>	
α-Tocopherol/total lipid(μg/mg)	Before	1.34±0.04 <sup>c</sup>	2.13±0.41 <sup>b</sup>	Age <sup>*</sup> , VE <sup>***</sup>
	After	2.83±0.18 <sup>a</sup>	3.03±0.25 <sup>a</sup>	
α-Tocopherol/triglyceride(μg/mg)	Before	11.36±0.96 <sup>bc</sup>	9.27±0.78 <sup>c</sup>	VE <sup>***</sup>
	After	17.00±1.42 <sup>a</sup>	14.64±2.25 <sup>ab</sup>	
α-Tocopherol/total cholesterol(μg/mg)	Before	4.59±0.14 <sup>b</sup>	5.27±0.78 <sup>b</sup>	VE <sup>***</sup>
	After	8.24±0.67 <sup>a</sup>	8.62±0.86 <sup>a</sup>	

<sup>1)</sup>Mean ± SE<sup>2)</sup>Means with different letters with a box are significantly different at p<0.05 by duncan's multiple range test.<sup>3)</sup>Statistical significance calculated by 2-way anova test. Age: Age effect, VE: Vitamin E supplement effect

\*p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01, \*\*\*p&lt;0.001

노인군에서 약간 낮아지는 경향을 보였으나 비타민 E 보충과 나이에 따른 차이가 나타나지 않았다(Table 3). 호중구의 비율은 보충 전에 대조군 51%, 노인군 35.7%이던 것이, 보충 후에 각각 58.9%, 43.7%로 대조군이 유의적으로 높았으며, 비타민 E 보충으로 증가하는 효과가 나타났다. 호중구의 정상 비율이 45~60%인 것과 비교하면(19)

대조군은 비타민 E 보충 전이나 후에 모두 정상범위에 있었고 노인군은 비타민 보충 전에는 정상과 많은 차이가 있었으나 보충 후에는 정상에 가깝게 회복하였다. 이와는 달리 림프구의 경우는 보충 전에 대조군 39.7%, 노인군 50.1%이던 것이, 보충 후에 33.6%, 45.0%로 감소하였는데, Lesourd(20)는 혈액내 림프구의 수가 나이가 증가함

Table 3. Number and percentage of white blood cells and their subpopulation before and after vitamin E supplementation

		Young women	Old women	Significant factor <sup>4)</sup>
White blood cells(×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Before	6.30±0.74 <sup>1)NS2)</sup>	6.02±0.38	NS
	After	6.02±0.37	5.82±3.33	
Neutrophil no.(×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Before	3.40±2.24 <sup>ab3)</sup>	2.17±0.94 <sup>b</sup>	Age <sup>*</sup>
	After	3.64±1.38 <sup>a</sup>	2.57±0.80 <sup>ab</sup>	
percent	Before	51.0±3.1 <sup>ab3)</sup>	35.7±3.2 <sup>c</sup>	Age <sup>***</sup> , VE <sup>**</sup>
	After	58.9±2.0 <sup>a</sup>	43.7±3.8 <sup>bc</sup>	
Lymphocyte no.(×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Before	2.32±0.76 <sup>bc</sup>	2.98±0.66 <sup>a</sup>	Age <sup>*</sup>
	After	1.95±0.27 <sup>c</sup>	2.59±0.59 <sup>b</sup>	
percent	Before	39.7±3.0 <sup>bc</sup>	50.1±2.4 <sup>a</sup>	Age <sup>***</sup> , VE <sup>*</sup>
	After	33.6±1.7 <sup>c</sup>	45.0±3.5 <sup>ab</sup>	
Monocyte no.(×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Before	0.41±0.26 <sup>NS</sup>	0.43±0.23	VE <sup>*</sup>
	After	0.30±0.07	0.32±0.11	
percent	Before	6.5±0.6 <sup>NS</sup>	7.3±1.1	VE <sup>*</sup>
	After	5.3±0.4	5.6±0.5	
Eosinophil no.(×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Before	0.12±0.06 <sup>b</sup>	0.38±0.21 <sup>a</sup>	Age <sup>***</sup>
	After	0.12±0.05 <sup>b</sup>	0.29±0.22 <sup>a</sup>	
percent	Before	2.1±0.3 <sup>b</sup>	6.2±0.8 <sup>a</sup>	Age <sup>***</sup>
	After	2.1±0.2 <sup>b</sup>	4.9±1.2 <sup>a</sup>	
Basophil no.(×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Before	0.049±0.043 <sup>NS</sup>	0.047±0.039	NS
	After	0.045±0.035	0.046±0.028	
percent	Before	0.73±0.15 <sup>NS</sup>	0.88±0.21	NS
	After	0.70±0.07	0.78±0.15	

<sup>1)</sup>Mean ± SE<sup>2)</sup>NS: Not significant<sup>3)</sup>Means with different letters with a box are significantly different at p<0.05 by duncan's multiple range test.<sup>4)</sup>Statistical significance calculated by 2-way anova test. Age: Age effect, VE: Vitamin E supplement effect

\*p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01, \*\*\*p&lt;0.001

에 따라 10~15%의 감소가 나타난다고 하여 본 연구 결과와는 상반되고 있다. 림프구비율의 정상 범위인 28~42%와 비교하여(19) 보면 대조군은 정상상태이지만 노인군은 이보다 높아 정상범위를 벗어나 있었는데 비타민 E 보충으로 림프구가 감소하는 경향을 보였다. 노인군에서 나타나는 호중구의 감소와 림프구의 증가는 같은 임상적인 의의를 가지고 있는데 악성빈혈이나 재생불량성빈혈과 같은 혈액질환, 감염, 간질환, 내분비질환 등에 의해 일어난다고 한다(19). 그러나 본 연구에 참여한 조사대상자들은 특별한 질환이 없는 건강한 상태로 정상적인 활동을 하고 있었으므로 이러한 백혈구세포의 변화는 특별한 질환에 의한 것이라기보다는 노화과정에 의한 것으로 생각되며 비타민 E의 보충은 완전하지는 않으나 이런 상태를 호전시키는 영향을 주었다.

단핵구 비율은 나이에 따른 차이가 없으나 비타민 E 보충으로 낮아지는 경향을 보이며 대조군이나 노인군 모두 4~8%의 정상범위에 있었다. 그리고 호산구 비율은 대조군에 비해 노인군에서 높았는데 비타민 E 보충으로 노인군에서 유의적이지는 않으나 낮아지는 경향을 보여 정상 범위인 1~5%로 회복되었다. 호염구의 비율은 대조군이나 정상군에서 모두 정상 범위인 0~1%에 있었고, 나이와 비타민 E 보충에 의한 효과는 없었다.

즉 백혈구의 총수는 비타민 E 보충이나 나이에 차이가 없었으나 노인군에서 대조군에 비해 호중구의 비율은 높고, 림프구의 비율은 낮았고, 정상범위를 벗어나 있었다. 이는 질병에 대한 방어 체계에 이상이 있는 것으로 보아지며 특히 가장 활발한 탐식작용을 하는 호중구의 비율 감소는 감염에 대한 위협이 높아진다고 보아진다. 나이가 증가함에 따라 면역세포가 증가하거나(21), 감소한다(22)는 상반되는 의견이 보고되고 있다. 그리고 Hau-

seman과 Weksler(23)는 나이가 증가하면 T-cell은 증식능력이 떨어져 면역능력을 완전하게 수행할 수 없는 오래된 세포(long-lived cell)라고 하였다. 또한 나이가 증가하면 미성숙세포의 증가가 일어나므로(24) 본 연구에서처럼 노인의 경우 림프구의 비율이 증가한 것은 면역능력이 증가하였다기 보다는 노화과정에서 오는 혈구세포 구성의 변화로 보아야 할 것이다.

그리고 비타민 E 보충은 호중구비율은 증가시키고, 림프구, 단핵구, 호산구비율은 감소시켜 노인군에서의 백혈구 분획을 정상범위로 회복시키는 경향을 보였다.

#### 면역세포 분획 비율

면역세포의 분획 비율은 Table 4과 같다. Total T-cell은 노인군에서 감소하며 비타민 E 보충 후에 약간 증가하는 경향이나 유의적인 차이가 없었다. Helper T-cell은 비타민 E 보충에 의해 증가하는 경향이었는데 특히 노인군에서 유의적인 증가를 보였으며 나이에 따른 차이는 없었다. Suppressor T-cell은 대조군에서는 약간 증가하고 대조군에서는 감소하는 경향이었으나 비타민 E 보충과 나이에 따른 차이는 없었다. 그리고 helper/suppressor T-cell의 비율이 비타민 E 보충으로 증가하는 경향이지만 유의적이지는 않았다.

나이가 증가하면 T-cell subset에서의 많은 변화가 일어나 미성숙(CD2+CD3-)T-cell은 증가하고 virgin T-cell(CD45RA)는 감소한다(24). 그리고 helper T-cell과 suppressor T-cell은 면역능력을 조절하는 기능을 하는데 helper T-cell이 감소하면 면역결핍(immune deficiency) 현상이 나타나고, suppressor T-cell이 감소하면 항체가 과잉으로 생산된다. 그러므로 helper T-cell의 감소는 정상적인 면역능력유지의 손상을 가져오고, suppressor T-cell의 감소는 항체생산을 증가시켜 자가면역질환의

Table 4. Percentages of lymphocytes subpopulation and NK cell before and after vitamin E supplementation (%)

		Young women	Old women	Significant factor <sup>4)</sup>
Total T-cell(CD3+)	Before	68.8±1.8 <sup>1)ab(2)</sup>	63.6±2.6 <sup>ab</sup>	Age*
	After	72.8±1.4 <sup>a</sup>	66.6±2.9 <sup>b</sup>	
Helper T-cell(CD4+)	Before	34.5±2.4 <sup>b</sup>	34.8±1.4 <sup>b</sup>	VE**
	After	40.0±1.8 <sup>ab</sup>	43.7±3.8 <sup>a</sup>	
Suppressor T-cell(CD8+)	Before	31.3±1.7 <sup>NS(3)</sup>	29.5±2.3	NS
	After	32.3±1.7	28.4±2.2	
Helper/suppressor T-cell ratio(CD4+/CD8+)	Before	1.16±0.14 <sup>NS</sup>	1.25±0.12	NS
	After	1.29±0.13	1.53±0.20	
B-cell(CD19+)	Before* <sup>1)</sup>	14.3±1.3 <sup>a</sup>	10.8±1.2 <sup>ab</sup>	Age*
	After	12.3±0.7 <sup>ab</sup>	9.1±1.2 <sup>b</sup>	
NK cell(CD56+)	Before*	19.6±1.9 <sup>b</sup>	24.5±2.5 <sup>ab</sup>	Age**
	After	20.3±1.3 <sup>b</sup>	28.9±1.9 <sup>a</sup>	

<sup>1)</sup>Mean ± SE

<sup>2)</sup>Means with different letters with a box are significantly different at p<0.05 by duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup>NS: Not significant

<sup>4)</sup>Statistical significance calculated by 2-way anova test. Age: Age effect, VE: Vitamin E supplement effect

\*p<0.05, \*\*p<0.01

발병을 촉진할 수 있다고 한다(25). 본 연구에서 helper/suppressor cell의 비율이 비타민 E 보충 후에 증가하는 경향을 보이는 것은 suppressor T-cell의 감소에 의한 것이 아니라 helper T-cell의 증가에 의한 것이므로 노인에게 비타민 E의 보충은 T-cell이 담당하는 세포 매개성 면역능력의 유지에 도움을 줄 수 있는 가능성을 제시하고 있다.

B-cell은 비타민 E 보충 전에는 노인군이 대조군에 비해 낮은 유의적인 차이가 있었고, 보충 후에는 두 군에서 감소하는 경향이 나타났다. NK cell 비율은 노인에서 높았으며 비타민 보충으로 증가하는 경향을 보였다. Le-sourd(26)는 나이가 들면 NK cell의 증가한다고 하여 본 연구결과와 일치하였다.

#### 혈장내 면역 글로불린과 보체 농도

혈장내 면역 글로불린과 보체 농도는 Table 5와 같다. Ig G는 노인군에서 높았으며 비타민 E 보충으로 대조군이나 노인군에서 감소하는 경향을 보였으나 유의적이지는 않았다. Ig A와 보체는 노인군에서 유의적으로 높았고, 비타민 E 보충의 효과는 없었다. Ig M은 대조군에서 높았으며 비타민 E 보충에 의한 효과는 없었다. Kim(16)의 여자를 대상으로 한 연구에서도 나이가 증가함에 따라 Ig G와 A, 보체가 증가하고 Ig M은 감소하여 본 연구결과와 일치하였다. 그러나 Batory 등(27)은 나이가 증가함에 따라 혈액 내 Ig A, Ig M의 농도는 나이가 증가한다고 하여 본 연구와는 다소 다른 결과를 보여주었다. 그리고 노인의 경우 특정 항체에 대한 항원의 증가가 감소하고(28), 자기항체에 대한 항원은 증가하는데(29) 이것은 B-cell의 분획에 있어서의 변화를 나타내기 때문으로 노인의 경우 체액성 면역능력도 감소한다고 보고하고 있다.

Ziemiński 등(30)은 노인이 100mg의 비타민 E를 하루에 두 번, 12개월 동안 섭취하였을 때 혈액내 면역글로불린과 보체에 유의적인 차이가 없었고, Meydani 등(31)도 60세 이상의 남녀에게 800mg의 α-tocopherol을 30일간 주었을 때도 면역글로불린의 농도(Ig A, M, G)에는

차이가 없었다고 보고하고 있다. 또한 Harman과 Miller(32)는 103명의 노인에게 200mg과 400mg의 α-tocopherol을 섭취시켰을 때 influenza와 vaccine에 대한 항체형성에도 차이가 없었다. 본 연구 결과도 면역 글로불린과 보체 농도 등 체액성 면역능력에 비타민 E 보충이 많은 영향을 주지 않은 것으로 나타났다.

#### PMN의 증식능력

혈액내 PMN을 분리하여 증식능력을 실험한 결과는 Table 6과 같다. T-cell의 증식을 자극하는 것으로 알려진 Con A에 대한 결과는 비타민 E 보충에 의해 대조군에서 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이가 없었고, 나이에 따른 차이도 나타나지 않았다. 그리고 PHA에 대한 증식능력은 대조군이 높았고, 비타민 E 섭취는 영향을 주지 않았다. B-cell의 증식을 자극하는 PWM을 사용한 경우에도, 대조군이 노인군에 비해 유의적으로 높거나 나이에 따른 면역능력에 대한 차이를 보였으나 비타민 E 보충은 영향을 주지 않았다. 즉, 세포 매개성 면역능력을 알아보기 위해 실시된 실험에서 PMN의 증식능력은 나이가 증가하면 감소하는 것을 알 수 있었으나 비타민 E 보충의 효과는 볼 수 없었다.

Waart 등(33)은 특이적 면역반응은 나이 증가에 따라 감소하여 노인의 유병률과 사망률을 증가시키므로 건강한 노인에 있어서도 노화와 관련된 면역능력의 저하는 중요한 의미를 가진다고 하였다. 노화과정의 지질과산화의 증가와 PGE<sub>2</sub>생성증가가 면역능력감소의 원인으로 이야기되고 있는데(34) 사람을 대상으로 한 실험에서는 비타민 E 보충이 면역능력에 대한 효과는 아직 의견이 일치되고 있지 않다.

Meydani 등(35)은 60세 이상의 노인에게 하루에 800 mg α-tocopherol을 30일간 주었을 때 자연성피부과민반응, Con A에 대한 mitogenesis, IL-2의 생산이 증가하였고, PGE<sub>2</sub>의 생성과 지질과산화는 감소하였으나, T-cell의존성 B-cell을 자극하는 mitogen에 대한 반응은 증가하지 않았다고 하였다. 또 다른 연구에서는(31), 65세 이

Table 5. Plasma immunoglobulins and complement concentrations before and after vitamin E supplementation (mg/dl)

		Young women	Old women	Significant factor <sup>4)</sup>
IgG (694-1618) <sup>1)</sup>	Before	1743.3±58.1 <sup>2)ab3)</sup>	1962.5±107.3 <sup>a</sup>	Age*
	After	1671.3±47.9 <sup>b</sup>	1855.6±130.1 <sup>ab</sup>	
IgA (68-378)	Before	168.5±12.3 <sup>c</sup>	256.0±29.3 <sup>ab</sup>	Age***
	After	193.7±16.2 <sup>bc</sup>	280.2±36.8 <sup>c</sup>	
IgM (63-277)	Before	213.1±22.0 <sup>a</sup>	146.2±14.2 <sup>b</sup>	Age**
	After	212.7±19.8 <sup>a</sup>	153.9±14.2 <sup>b</sup>	
C <sub>3</sub> (85-201)	Before	64.1±2.2 <sup>bc</sup>	73.4±4.9 <sup>ab</sup>	Age***
	After	59.6±1.8 <sup>c</sup>	74.5±4.8 <sup>a</sup>	

<sup>1)</sup> Norml ranges(17)

<sup>2)</sup> Mean±SE

<sup>3)</sup> Means with different letters with a box are significantly different at p<0.05 by duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup> Statistical significance calculated by 2-way anova test. Age: Age effect, VE: Vitamin E supplement effect

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

Table 6. Mitogenesis

(Stimulation index/ $2.5 \times 10^5$  cell)

		Young women	Old women	Significant factor <sup>3)</sup>
Con A	Before	$0.92 \pm 0.17^{1)NS2)}$	$0.92 \pm 0.06$	NS
	After	$0.96 \pm 0.02$	$0.92 \pm 0.05$	
PHA	Before	$0.98 \pm 0.17^{NS}$	$0.91 \pm 0.03$	Age*
	After	$0.99 \pm 0.01$	$0.91 \pm 0.05$	
PWM	Before	$0.99 \pm 0.01^{NS}$	$0.92 \pm 0.02$	Age*
	After	$1.00 \pm 0.02$	$0.93 \pm 0.06$	

<sup>1)</sup>Mean  $\pm$  SE<sup>2)</sup>NS: Not significant<sup>3)</sup>Statistical significance calculated by 2-way anova test. Age: Age effect, VE: Vitamin E supplement effect\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ 

상의 노인에게 하루에 60, 200, 800mg의  $\alpha$ -tocopherol을 섭취시켰을 때 모든 수준에서 지연성피부과민반응을 증가시켰으나, Con A에 대한 증식은 800mg을 섭취한 군에서만 증가하였다고 하였다.

그러나 Goodwin과 Garry(36)는 65~94세 노인에게 비타민 E를 보충시켰을 때 비타민 E의 섭취와 지연성피부과민반응과 PMN의 mitogenesis, 혈청 면역글로불린이 상관관계가 나타나지 않았다고 하였다. 그리고 100mg의  $\alpha$ -tocopherol을 3개월간 섭취시켰을 때 혈장내 비타민 E의 농도는 50% 이상 증가하였으나 PBMC의 PHA, Con A에 대한 증식능력이 변화하지 않았는데 면역세포에서의  $\alpha$ -tocopherol양의 증가는 미미하여 면역세포에서의  $\alpha$ -tocopherol 양의 증가를 가져오기 위해서는 더 많은 비타민 E의 보충이 필요하다고 하였다(33). 본 연구에서도 나이에 따른 면역능력의 감소를 보였으나 비타민 E의 보충 효과는 나타나지 않았는데 이는 본 연구에 사용한 400mg이 세포 매개성 면역능력을 증진시키기에는 보충 양이 적었기 때문으로 생각할 수 있다.

### 항산화상태

#### 지질 과산화물 생성(TBARs)

비타민 E보충 전후에 혈장내 지질 과산화물을 측정한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 보충 전에는 노인군에서 유의적으로 높았는데 비타민 E 보충으로 대조군과 노인군에서 모두 유의적으로 감소하여 보충 후에는 나이에 따른 유의적인 차이가 없어졌다. 비타민 E는 지용성 부분의 강력한 항산화제로 비타민 E 보충은 체내 지질산화물질의 산화를 확실히 억제할 수 있다는 것을 보여 주고 있다.

산화스트레스는 free radical의 생성과 세포내 항산화 방어체계사이의 균형이 깨지면 생기는 것으로 여러 질병을 일으킬 수 있는데 특히 노인의 경우는 알츠하이머병이나 파킨슨병, 백내장 등을 일으킬 수 있다. 그러므로 체내에서 생성된 free radical은 체내 항산화체계에 의해서 중화되어야 한다. 체내 항산화제로는 비타민 E, C,  $\beta$ -카로틴 등이 작용하는데 비타민 E는 지질과산화의 연쇄반응

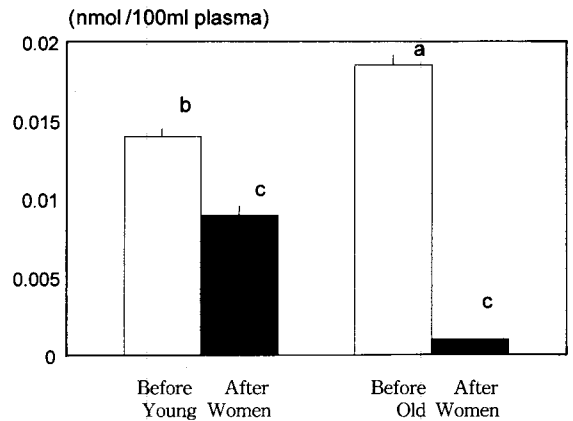


Fig. 1. Plasma TBARs concentrations before and after vitamin E supplementation.

Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

을 중단시키는 가장 효과적이다(37). Sun 등(38)은 비타민 E를 섭취시킨 토끼에서 TBARs의 유의적인 감소를 관찰하였고, 본 연구에서도 비타민 E의 보충은 효과적으로 지질과산화물의 축적을 감소시킬 수 있었다.

#### 적혈구 용혈시간(RSA)

Fig. 2는 적혈구와 산화물질을 혼합한 후에 적혈구가 이러한 산화자극에 얼마나 견딜 수 있는지, 용혈시간을 측정함으로써 체내 항산화상태의 기능을 직접적으로 알 수 있는 실험이다. 적혈구의 최대 용혈시간의 50%로 나타내는 용혈시간은 비타민 보충 전에 대조군은 54.2분, 노인군은 48.2분으로 노인군에서 유의적으로 짧아 나이가 증가하면 산화자극에 의해 적혈구가 빠르게 용혈되는 것을 알 수 있었다. 그리고 비타민 E 보충으로 대조군은 71.5분으로 유의적으로 길어졌으나 노인군은 50.6분으로 약간 증가하는 경향만을 나타내어 보충 후에도 나이에 따른 유의적인 차이가 있었다. 즉, 비타민 E의 보충은 적혈구의 용혈시간을 증가시켰으나 그 효과가 나이에 따른 차이를 보여 젊은 층에서는 더 많은 증가를 보이지만 노인군에서는 효과가 미미한 것으로 나타났다. 본 실험에서

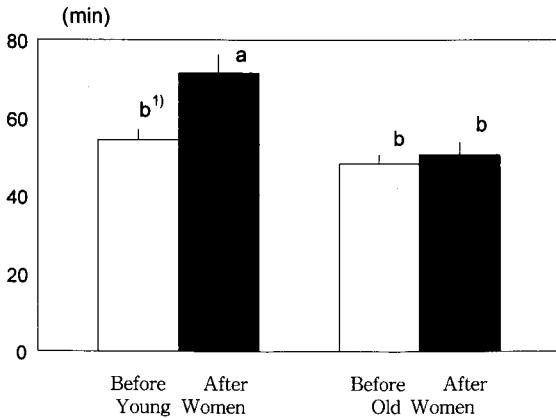


Fig. 2. Radical scavenger activities before and after Vitamin E supplementation.

<sup>1</sup>Means with different letters are significantly different  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

free radical의 generator로 azobis를 사용하였는데 azo compound는 탄소중심의 free radical과 질소를 발생시키므로 이와 같은 실험법은 체내 총체적인 항산화상태를 평가하는 적절한 방법으로 이것은 세포막의 비타민 E 고갈이나 효소활성과도 관련있다고 한다(39). Girodon 등(37)은 비타민의 장기간의 섭취는 RSA를 노인에서 증가시켰으나 젊은 사람보다는 유의적으로 낮다고 하여 본 실험결과와 일치하였다. 이는 산화스트레스는 노화과정과 관련이 있으며 노인에서 항산화방어체계의 감소와 관련 있다.

## 요 약

본 연구는 나이가 다른 여성에서 비타민 E 보충이 면역능력과 체내 항산화상태에 어떠한 영향을 주는지 알아보는 것을 목적으로 하였다. 조사대상자의 일반사항은 대조군인 젊은 여성의 평균 나이는 20세였으며, 노인 여성군은 63.3세였다. 신장은 대조군이 컸고, 체중은 노인군에서 무거워, 체질량지수는 노인군이 유의적으로 높았으나 모두 정상체중범위에 있었다. 혈장내 비타민 E 농도는 노인군에서 유의적으로 높았으나 혈액내 중성지방과 콜레스테롤량으로 나누어 보면 나이에 따른 차이가 없어 노인군에서의 높은 비타민 E 농도는 혈액지방성분의 증가 때문으로 생각된다. 그리고 비타민 E를 하루에 400mg을 4주간 보충한 후에 혈장 내 비타민 E의 농도는 노인군과 대조군에서 유의적으로 증가되었다. 혈액내 백혈구 수는 나이와 비타민 E 보충에 따른 차이가 나타나지 않았다. 호중구의 수와 비율은 대조군이 유의적으로 높았고, 림프구의 수와 비율은 노인군이 유의적으로 높았는데 노인군에서는 정상 범위를 벗어나 있었으며 비타민 E 보충으로 정상 범위로 회복하는 경향을 보였다. 단핵구는 나이에

따른 차이가 없었고, 호산구는 노인군에서 증가하였으며 비타민 E 보충은 단핵구와 호산구의 수와 비율을 감소시켰다. 호염구 수와 비율은 나이와 비타민 E 보충에 의해 영향을 받지 않았다. Total T-cell의 비율은 노인군에서 감소하였으며, helper T-cell은 비타민 E 보충에 의해 노인군에서 유의적인 증가를 보였다. Suppressor T-cell 비율과 helper/suppressor T-cell의 비율은 나이와 비타민 E 보충에 의한 효과가 없었다. B-cell은 노인군에서 유의적으로 낮았고, NK cell은 노인군에서 유의적으로 높았으나 비타민 E 보충에 따른 영향은 없었다. Ig G와 Ig A는 노인에서, Ig M은 대조군에서 유의적으로 높았으나, 비타민 E 보충 후에 면역글로불린 농도에 유의적인 변화가 없었다. C<sub>3</sub>는 노인군에서 높았으며 비타민 E 보충은 영향을 주지 않았다. Con A에 대한 면역세포의 증식은 나이와 비타민 보충에 의한 영향을 받지 않았으나 PHA와 PWM에 대한 증식능력은 노인군에서 낮았고, 비타민 E 보충 효과는 없었다. 혈장내 지질과산화물 농도는 비타민 보충 전에는 노인군에서 유의적으로 높았으나 비타민 E 보충으로 대조군과 노인군에서 모두 유의적으로 감소하여 보충 후에는 나이에 따른 유의적인 차이가 없어졌다. 적혈구 용혈시간은 비타민 보충 전에 대조군이 노인군에 비해 유의적으로 길었고, 비타민 E 보충으로 대조군과 노인군은 증가하는 경향이었으나 대조군에서만 유의적인 증가를 보였다. 즉, 노인 여성은 젊은 여성과 면역능력의 여러 지표들이 차이가 있었다. 노인의 경우 백혈구 분획의 수와 비율, T-cell 비율, PMN의 증식능력이 감소하여 비특이적 면역능력과 세포 매개성 면역능력이 감소하였다. 비타민 E의 보충은 혈액내 비타민 E 농도를 증가시켰으며 지질과산화를 억제시켰고, 백혈구의 분획 이상을 정상으로 회복시켰으며 helper T-cell을 증가시켰다. 그러므로 노인에 있어서 비타민 E의 섭취는 체내 항산화영양상태를 호전시키므로 면역능력을 향상시킬 수 있음을 제시하고 있다.

## 문 헌

1. Chandra, S. and Chandra, R. K.: Nutrition, immune response and outcome. *Prog. Food. Nutr. Sci.*, **10**, 1-20 (1986)
2. Dekruyff, R. H., Kim, Y. T., Siskind, G. W. and Weksler, M. E.: Age-related changes in the *in vitro* immune response: Increased suppressor activity in immature and aged mice. *J. Immunol.*, **125**, 142-147(1980)
3. Weksler, M. E.: The senescence of the immune system. *Hosp. Pract.*, **16**, 53-64(1981)
4. Hallgren, H. M., Jacola, D. R. and O'leary, J. J.: Unusual pattern of surface marker expression on peripheral lymphocytes from aged humans suggestive of a population of less differentiated cells. *J. Immunol.*, **131**, 191-194(1983)



5. Vie, H. and Miller, R. A. : Decline, with age, in the proportions of mouse T-cells that express IL-2 receptors after mitogen stimulation. *Mech. Aging Dev.*, **33**, 63-68 (1983)
6. Hatman, L. J. and Kayden, H. J. : A high-performance lipid chromatographic method for the determination of tocopherol in plasma and cellular elements of the blood. *J. Lipid Res.*, **20**, 639-645(1979)
7. Coquette, A., Vray, B. and Vanderpas, J. : Role of vitamin E in the protection of the resident macrophage membrane against oxidative damage. *Arch. Int. Physiol. Biochim.*, **94**, 529-534(1986)
8. Meydani, S. N., Wu, D., Santos, M. S. and Hayek, M. G. : Antioxidants and immune response in aged persons: overview of present evidence. *Am. J. Clin. Nutr.*, **62**, 1462S-1476S(1995)
9. Meydani, S. N. and Tengerdy, R. P. : Vitamin E and immune response. In "Vitamin E: biochemical and clinical applications" Parker, L. and Fuchs, J.(eds.), Marcel Dekker Inc., New York, pp.549S-561S(1991)
10. Chavance, M., Brubacher, G. and Herbeth, B. : Immunological and nutritional status among the elderly. In "Lymphoid cell functions in aging" de Weck, A. L.(ed.), Interlaken Eurage, pp.231-237(1984)
11. Chavance, M., Brubacher, G. and Herbeth, B. : Immunological and nutritional status among the elderly. In "Nutritional immunity and illness in the elderly" Chandra, R. K.(ed.), Pergamon Press, New York, pp.137-142(1985)
12. Motchnik, P. A., Frei, B. and Ames, B. N. : Measurement of antioxidants in human blood plasma. *Method in Enzymology*, **234**, 269-279(1994)
13. Sternberg, J. C. : A rate nephelometer for measuring specific proteins by immunoprecipitate reaction. *Clin. Chem.*, **23**, 1456-1464(1977)
14. Corinne, R., Eric, R. R., Gerald, J. P. R., Rarie, B. and George, F. H. : Influence of beta carotene, vitamin E and vitamin C on endogenous antioxidant defenses in erythrocytes. *Ann. Pharmacother.*, **27**, 1349-1350(1993)
15. Lee, R. D. and Nieman D. C. : *Nutrition assessment*. 2nd ed., Mosby, p.243(1996)
16. Kim, Y. J. : Effects of vitamin E supplementation on antioxidant status and immune response with different aged women. Ewha Womans University Dissertation, Seoul(1998)
17. Sarataho, E. P., Nyyssonen, K. and Salonen, J. T. : Increased oxidation resistance of atherogenic plasma lipoproteins at high vitamin E levels in non-vitamin E supplemented men. *Atherosclerosis*, **124**, 83-94(1996)
18. Jordan, P., Brubacher, D., Moser, U., Stahelin, H. B. and Gey, K. F. : Vitamin E and vitamin A concentrations in plasma adjusted for cholesterol and triglycerides by multiple regression. *Clin. Chem.*, **41**, 924-927(1995)
19. Green cross reference laboratory : *Lab test directory: Clinical pathology selection and interpretation*. Korea medical book publisher, Seoul, pp.399-401(1998)
20. Lesourd, B. M. : Protein undernutrition as the major cause of decreases immune functions in the elderly: clinical and functional implications. *Nutr. Review*, **53**, S86-S94(1995)
21. Hallgren, H. M., Kersey, J. H., Dubey, D. P. and Yunis, E. J. : Lymphocyte subsets and integrated immune function in aging humans. *Clin. Immunol. Immunopath.*, **10**, 65-78(1978)
22. Diaz-Jouanen, E., Strickland, R. G. and Williams, R. C. Jr. : Studies of human lymphocytes in the newborn and the aged. *Am. J. Med.*, **58**, 620-628(1975)
23. Hauseman, P. B. and Weksler, M. E. : Changes in the immune response with age. In "Handbook of the biology of aging" Finch, C. E. and Schneider, E. L.(eds.), Van Nostrand Reinhold Company, New York, pp.414-432(1985)
24. Lesourd, B. M. and Meaumes, S. : Cell mediated immunity changes in ageing relative importance of cell sub-population switches and of nutritional factors. *Immunol. Letter*, **40**, 235-242(1994)
25. Stites, D. P. : Laboratory methods for evaluating immunologic dysfunction. In "Aging, immunity and arthritic disease" Kay, M. M. B., Galpin, J. and Makinodan, T. (eds.), Reavan Press, New York, pp.79-98(1980)
26. Lesourd, B. M. : Nutrition and immunity in the elderly: modification of immune responses with nutritional treatments. *Am. J. Clin. Nutr.*, **66**, 478S-484S(1997)
27. Batory, G., Ianesco, A., Puskas, E., Regei, A. and Lengyei, E. : Antibody and immunoglobulin levels in aged humans. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, **3**, 175-188(1984)
28. Rajczy, K., Vargha, P. and Beregi, E. : Relationship between immunoglobulin levels and specific antibody titers in the elderly. *Gerontology*, **19**, 158-161(1986)
29. Silverstris, F., Anderson, W. and Goodwin, J. S. : Williams RC. Discrepancy in the expression of autoantibodies in healthy elderly individuals. *Clin. Immunol. Immunopath.*, **35**, 234-244(1985)
30. Ziemiński, S., Wartanowicz, M., Klos, A., Raczka, A. and Klos, M. : The effect of ascorbic acid and alpha-tocopherol supplementation on serum proteins and immunoglobulin concentration in the elderly. *Nutr. Int.*, **2**, 1-5(1986)
31. Meydani, S. N., Meydani, M. and Blumberg, J. B. : Vitamin E supplementation enhances *in vivo* immune response in healthy elderly: a dose-response study. *J. Am. Med. Assoc.*, **277**, 1380-1386(1997)
32. Harman, D. and Miller, R. W. : Effect of vitamin E on the immune response to influenza virus vaccine and the incidence of infectious disease in man. *Age*, **9**, 21-23 (1986)
33. Waart, F. G., Portenzen, L., Doekes, G., Verwaal, C. J. and Kok, F. J. : Effect of 3 months vitamin E supplementation on indices of the cellular and humoral immune response in elderly subjects. *Br. J. Nutr.*, **78**, 761-774(1997)
34. Meydani, S. N. and Beharka, A. A. : Recent developments in vitamin E and immune response. *Nutr. Review*, **56**, S49-S58(1996)
35. Meydani, S. N., Barklund, M. P., Liu, S., Meydani, M., Miller, R. A., Cannon, J. G., Morrow, F. D., Rocklin, R. and Blumberg, J. B. : Vitamin E supplementation enhances cell-mediated immunity in healthy elderly subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, **52**, 557-563(1990)
36. Goodwin, J. S. and Garry, T. J. : Relationship between megadose vitamin supplementation and immunological function in a healthy elderly population. *Clin. Exp. Immunol.*, **51**, 647-653(1983)
37. Girodon, F., Blache, D., Monget, A. L., Lombart, M., Lecompte, P. B., Arnaud, J., Richard, M. J. and Galan, P. : Effect of a two-year supplementation with low doses of antioxidant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters. *J. Am. Coll. Nutr.*, **16**, 357-365(1997)

38. Sun, Y. P., Zhu, B. Q., Sievers, R. E., Norkus, E. P., Parmley, W. W. and Deedwania, P. C. : Effects of antioxidant vitamin C and E on atherosclerosis in lipid-fed rabbits. *Cardiology*, **89**, 189-194(1998)
39. Blache, D. and Prost, M. : Free radical attack: Biological test for human resistance capability. In "*Proceedings of the IX College park Colloquium on Chemical Evolution: A Lunar-Based Chemical Analysis Laboratory*" Ponnamperuma, C. and Gehrke, C. W.(eds.), NASA, pp.82-98 (1992)

(1999년 5월 3일 접수)