

Mice에서 Corticoids투여에 의한 면역성 저하에 대한 Conjugated linoleic acid의 효과에 관한 연구

임형진 · 김진영¹ · 임좌진 · 이병한 · 박희명 · 정병현

건국대학교 수의과대학

A Study on the Effect of Conjugated Linoleic Acid on Immunosuppressed Mice with Corticoids

Hyung-Jin Lim, Jin-Young Kim¹, Joa-Jin Lim, Byung-Han Lee, Hee-Myung Park and Byung-Hyun Chung

College of Veterinary Medicin, Konkuk University, Seoul, 143-701, Korea

Abstract : This study was performed to investigate the immunopotentiative effects of conjugated linoleic acid on mice immunosuppressed by administrating corticoids. Mice were divided into four groups of 8 mice. Two groups (C, CP) were given diet supplemented with 1% conjugated linoleic acid (CLA) and the other two groups (L, LP) were given diet supplemented with 1% linoleic acid (LA) instead of CLA. Prednison was administered to two groups (CP, LP) for immune depression. After feeding diets for 3 weeks containing PDS injection for last 1 week. Serum and gut lumen lavage were taken. Measurement of total Ig were executed using sandwich ELISA. Serum levels of IgA, IgG, and IgM showed some trend which groups fed with CLA were higher than groups fed with LA while IgE was reduced in those fed the CLA intake, and groups administered with PDS were lower than groups administered with saline. However, no significant differences were seen in the proportion of total immunoglobulin in serum. In case of secretory IgA, Group C and CP were significantly higher than group L and LP. Especially between CP and LP, it can be seen effects of CLA. In addition that the CLA treated group weighted a significantly lower level than the one's that have not been treated with CLA. These result support the view that CLA potentiate the immune response and prevent immune depression caused by administrating of corticoids. In conclusion, CLA produced a situation favorable for immunopotentiative effects. Thus, the clinical application of CLA is warranted.

Key words : conjugated linoleic acid, corticoids, IgG, IgA, IgM

서 론

새로운 물질인 Conjugated linoleic acid(CLA)는 위치상 그리고 기하학상의 linoleic acid의 이성체를 말하는 것으로 그 어원은 1987년에 Wisconsin 대학의 Pariza가 fried ground beef 내의 항암 물질을 연구하던 중 linoleic acid에서 유래된 이성체를 복합어로 표현하여 항암 효과를 발표하면서 유래되었다¹. 그 후로 CLA에 대한 지속적인 관심과 잠재적인 효과에 대해서 식품이나 의약품부분에서 많은 연구가 이어졌다.

1987년 Ha 등²은 총 8개이상의 이성체 혼합물을 종합적으로 CLA라 명명하였다. 하지만 화학적으로 합성한 CLA는 c9,t11-CLA와 t10,c12-CLA 이성체가 각각 48% 정도로 주를 이루었고 나머지 이성체들은 미량이다. 화학적으로 합성된 CLA를 재료로 한 mouse의 항암 실험에서 c9,t11-CLA 이성체만이 membrane의 인지질에 포함되어 있어서 이 이성

체가 생리활성이 강하고 항암효과가 있는 것으로 추정되었다^{13,16}. 최근의 분석 방법의 개발로 이후 8개의 새로운 CLA가 추가로 밝혀졌고²⁰ 앞으로도 이러한 발견은 계속될 것으로 사료된다. 이후 항암 효과는 rat의 mammary carcinogenesis에 대해서 집중적으로 다루어졌고 예방 및 치료 효과가 보고되었다^{14,17}.

또한, 토끼에서는 dietary CLA가 유의성 있는 cholesterol의 축적감소 효과를 보였고¹⁹, Hamster에서는 대동맥 경화증의 발생이 억제되는 효과를 나타내었다²¹.

이밖에도 체지방 감소효과는 mouse²²는 물론, 사람²⁸에서도 나타났으며, growth factor로서도 작용하고⁶, 또 bone metabolism에 관여하며²⁴, 당뇨병에도 효과가¹⁵ 있는 것으로 나타났다.

Corticosteroids는 부신피질에서 분비되는 호르몬으로서 대사의 방향을 성장과 저장성의 신체리듬에서 생리적 활성화와 열량소모의 리듬으로 전환시키는 작용을 하며, 간에서 당 신생을 증가시키고, 식욕증추를 자극한다. 또한 성장호르몬의 분비를 억제하고 염증반응의 매개체를 음성 feed-back mechanism으로 조절하여 염증반응을 억제하는 것으로 알려져 있다.

이와 같은 corticosteroids는 생체에 대한 여러 가지 작용

Corresponding author.
E-mail : kjunk215@hanmail.net

본 논문은 2000년도 건국대학교 학술진흥연구비에 의해 연구되었음.

으로 인하여 현재 인의 및 수의임상에서 치료 및 증상완화 목적으로 많이 이용되고 있으나 심각한 면역저하 부작용을 나타내고 있다. 장관 내에서는 분비형 면역글로블린 A(secretory IgA)의 감소로 심각한 복합감염의 기회를 가져 오며 패혈증으로 패혈성 쇼크의 위험도 있다¹¹. Mouse에서 glucocorticoids를 약리학적 용량으로 사용해도 항체의 합성이 억제되며⁸, corticoid를 3~5일간 고용량의 methylprednisolone을 투여 시 혈청의 IgG 함량이 감소되며³, 또한 12주간 methylprednisolone을 5 mg/kg/day로 복강내로 투여한 mouse에서 혈장 내 IgG 함량이 감소한다²⁷.

본 연구에서는 무수한 CLA의 효과 중에서도 dietary fatty acid가 면역기계에 영향을 주고⁴, 불포화 지방이 mouse의 면역계에 관여하며² 면역방어작용으로 림프구의 증식에 관여하고 혈청 및 장관막 림프절 내의 면역글로블린을 증가시키는 사실²⁶ 등에 착안하여 prednisone에 의한 mice의 면역저하 반응을 CLA가 어느 정도 예방 혹은 증강시킬 수 있는지를 sandwich ELISA기법을 통해서 혈액과 장관내의 면역글로빈의 변화를 측정하여 확인하였다.

재료 및 방법

공시동물과 사육환경

본 실험에 공시된 실험 동물은 4주령의 건강한 Balb/c male mice(Charles River)로 체중은 22.19 ± 0.28 g로 총 32두를 공시하였다. 1주일간의 적응사육후 3주간의 실험에 사용하였다.

두 개의 cage에 분류하여 cage당 4마리씩 8개의 cage를 isolation cages multiple rack을 이용하여 가능한 깨끗하고 무균적인 조건을 부여하였다. 온도는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $60 \pm 20\%$ 를 유지하고, 12시간 간격으로 명암주기를 조절하였다. 사료는 powder 형태의 Lab-Rodent Diet(Purina)를 자유 급여하였고, bedding은 Beta-Chip(Northeastern Products Corp.)으로 하였으며 음수는 자유롭게 이루어졌다.

체중은 주2회씩 측정하였으며 실험기간 중 마지막 1주 동안에는 Prednisone을 복강 내 주사하였다.

Conjugated linoleic acid의 준비

CLA는 Ip 등³의 방법으로 만들어졌으며 순도는 76.62%이고, 그 조성은 백분율로 c9, t11 ; 37.98%, t10, c12 ; 38.64%를 나타내었다. CLA는 powder상태의 Lab-Rodent diet에 사료 당 비율이 1%로 만들어져 급여되었는데 w/w 퍼센트의 비율로 100 g의 사료 당 1.35 g의 CLA를 첨가하였다. 골고루 섞기 위해서 spray를 이용하여 폐쇄된 공간에서 이루어졌으며 산화를 방지하기 위해서 질소 가스 하에서 준비되어졌다.

LA(SIGMA, U.S.A.)는 CLA를 첨가하여 급여하는 실험군과 섭취사료 대비 같은 양의 지방을 급여하여 실험상 같은 조건을 부여하기 위하여 대조군의 사료에 첨가하여 주었다. w/w 퍼센트의 비율로 100 g의 사료 당 1.69 g의 60% LA

를 CLA와 같은 방법으로 사료에 첨가하였다.

Corticoids의 준비

Prednisone(17 α , 21-Dihydroxy-1,4-pregnadiene-3,11,20-trione. powder. SIGMA. U.S.A.)을 phosphate buffered saline solution(pH7.4)에 용해하여 최종 농도가 0.2 mg/ml이 되도록 하였으며 투여 전까지 4°C에 보관하였다.

실험군(Group)의 분류 및 처치

본 실험은 대조군과 실험군을 각각 2개의 군으로 나누었으며 CLA에 대한 대조군으로 LA를 첨가한 군(L), LA를 첨가하였으며 마지막 7일간 PDS를 투여한 군(LP); CLA를 첨가한 군(C), CLA를 첨가하고 마지막 7일간 PDS를 투여한 군(CP)으로 나누었으며 각 군별 실험동물은 각각 8마리씩 배정하였다.

CLA와 LA는 각각 사료당 비가 1%가 되도록 첨가하였으며, PDS를 투여한 군의 경우는 kg당 1 mg으로 매일 7일간 하루에 한번 오전 10시에서 11시 사이에 복강 내 주사하였으며 PDS를 투여하지 않은 L군과 C군은 같은 조건의 stress를 부여하기 위하여 saline을 동량 주사하였다

혈청(Serum)의 분리

실험 경과 후에 가벼운 ether 마취를 하여 보정한 후에 흉곽과 복부를 알코올로 소독한 다음 개복하여 복대정맥에서 채혈을 하였다. 혈액은 IgA, IgG, IgM 그리고, IgE의 측정을 위하여 microfuge tube에 담고 37°C에서 한시간 동안 incubation 시킨 다음 4°C에서 3000 rpm으로 15분간 원심분리 후에 microfuge tube에 분주하고 Sandwich ELISA를 통하여 분석하였다.

장관 내 함유물(Gut lumen lavage)의 분리

혈액을 채취하고 난 후에 소화기계에서 십이지장 하단부와 맹장의 상단부를 결찰하여 양단 끝을 절제한 다음, 스탠드에 고정하여 세우고 하단부에 cornical tube를 위치시켰다. 그리고 2 ml의 cold PBS(4°C, containing soybean trypsin inhibitor 0.1 mg/ml)를 상단에서 아래로 흘러보내 tube에 담아내었다. 그런 다음 2000 g에서 30분간 centrifuge를 한 후에 상층액을 microfuge tube에 옮기고 sandwich ELISA를 통하여 분석하였다^{10,18}.

Sandwich ELISA

96-well flat bottom immuno plate(Maxisorp, NUNC)에 Primary antibody(capture antibody)로써 각각의 plate에 goat anti-mouse IgA (diluted 1/1000 in carbonate buffer), goat anti-mouse IgG (diluted 1/1000 in carbonate buffer), goat anti-mouse IgM (diluted 1/1000 in carbonate buffer), goat anti-mouse IgE (diluted 1/1000 in carbonate buffer)를 100 μl 씩 분주하여 4°C에서 overnight으로 incubation 하였다. 다음날 PBS-Tween(0.05%) solution으로 3회 세척한

후에 Blocking Solution을 각각의 plate에 200 μ l씩 분주한 다음 37°C에서 1시간 incubation 시켰다. 그 후 다시 PBS-Tween solution으로 3회 세척 후에 각 plate당 negative control을 포함하고 standard antibody인 purified mouse IgA, κ monoclonal Ig isotype standard (diluted 1/1000 in diluted blocking solution), IgG, whole molecule(diluted 1/2000 in diluted blocking solution), purified mouse IgM, κ (anti-TNP) monoclonal Ig isotype standard(diluted 1/100 in diluted blocking solution), purified mouse IgE, κ (anti-TNP) monoclonal Ig isotype standard(diluted 1/100 in diluted blocking solution)을 이진법으로 dilution한 Standard line을 포함하여 검체를 100 μ l 씩 분주하고 다시 37°C에서 1시간 incubation 시켰다. 그 후 다시 3회의 PBS-Tween solution으로 세척한 다음 secondary antibody(detection antibody)인 goat anti-mouse IgA:HRP, F(ab')₂ rabbit anti-mouse IgG(aff.pur):HRP, goat anti-mouse IgM:HRP를 1/1000으로 Diluted Blocking Solution에 희석하여 100 μ l씩 분주한 후에 다시 incubation시키고 3회의 PBS-Tween solution으로 세척하였다. IgE의 경우는 secondary antibody 과정이 둘로 나누어지는데 우선 biotin-conjugated rat anti-mouse IgE monoclonal antibody (diluted 1/1000 in diluted blocking solution)을 100 μ l씩 분주한 후에 37°C에서 1시간 incubation 하고 6회의 PBS-Tween solution으로 세척 후에는 avidine peroxidase conjugate (diluted 1/10000 in diluted blocking solution)을 마찬가지로 100 μ l씩 분주한 후에 37°C에서 1시간 incubation 하고 6회의 PBS-Tween solution으로 세척하였다. 여기까지의 과정을 마친 각각의 plate들은 마지막으로 substrate solution을 사용하여 발색을 시켜주게 되는데, substrate solution으로는 ABTS를 사용하였다. stop solution은 사용하지 않았으며, ABTS solution을 100 μ l씩 분주하여 반응시킨 후에 충분히 발색이 이루어지면 여판 번에 걸쳐 405 nm의 wavelength로 ELISA reader (Microplate autoreader. BIO-TEK INSTRUMENT. EL311 SL)을 이용하여 OD가를 측정하였다⁷.

통 계

실험 결과의 유의성 및 통계처리는 SAS package의 General Linear Model(GLM) Procedure(SAS ver. 6.04, SAS Institute)을 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였다.

결 과

체중변화

CLA를 투여하지 않은 대조군인 L군과 LP군은 CLA를 투여한 C군과 CP군에 비해서 PDS를 투여하기 전인 14일까지 유의성(P<0.05) 있는 체중 증가를 나타냈으며, PDS를 투여한 후에는 L군과 C군은 여전히 유의성 있는 차이를 나타내었지만, PDS를 투여한 LP군과 CP군은 유의성은 없었지만

체중 감소를 나타내었다. 그러나, CP군은 PDS를 투여한 후 3일 부터 다시 체중 증가 경향을 회복하였다(Fig 1).

혈청(serum)에서의 면역글로불린

Serum IgA 본 실험에서 각 군의 Immunoglobulin A의 농도는 L군, LP군, C군 그리고 CP군이 각각 17.27 ± 2.68 , 14.49 ± 0.58 , 20.67 ± 6.65 그리고 17.80 ± 3.74 ng/ml를 나타냈다. 각 군간의 차이는 유의성을 나타내지는 못했으며 CLA를 투여한 실험군은 대조군에 비해 높은 수준의 농도를 나타내는 경향을 보였고, PDS를 투여한 군은 PDS를 투여하지 않은 군에 비해 낮은 수준의 경향을 보였다(Fig 2).

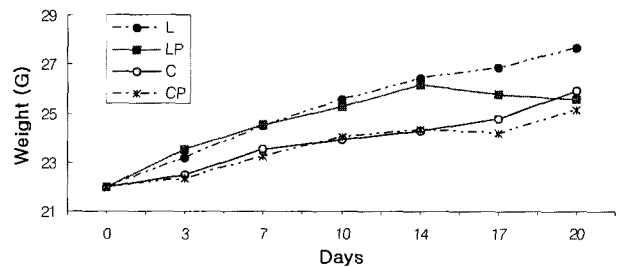


Fig 1. Body Weight

L : groups fed diet supplemented with 1% LA and pseudo-injected, LP : groups fed diet supplemented with 1% LA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19., C : groups fed diet supplemented with 1% CLA and pseudo-injected, CLP : groups fed diet supplemented with 1% CLA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19.

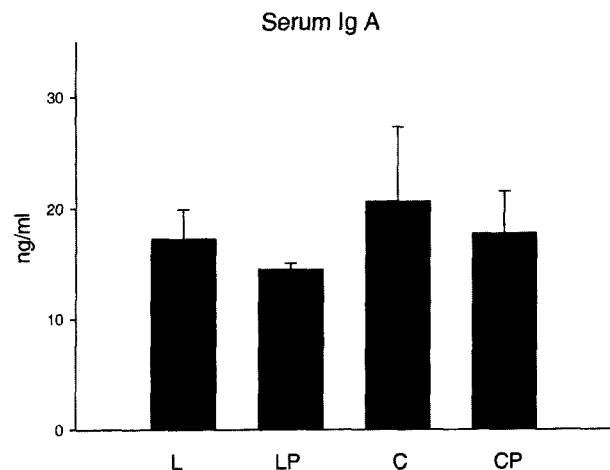


Fig 2. Serum Immunoglobulin A concentration

L : groups fed diet supplemented with 1% LA and pseudo-injected., LP : groups fed diet supplemented with 1% LA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19., C : groups fed diet supplemented with 1% CLA and pseudo-injected., CLP : groups fed diet supplemented with 1% CLA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19. Each bar represents the mean concentration of immunoglobulin and Y error bar is expressed as means \pm standard error (n = 8)

Serum IgG. 각 군의 Immunoglobulin G의 수준은 L군, LP군, C군 그리고 CP군이 각각 147.2 ± 32.3 , 142.3 ± 8.7 , 156.4 ± 48.3 그리고 150.5 ± 34.9 ng/ml을 나타냈다. 각 군간의 차이는 유의성을 볼 수 없었으며 거의 비슷한 수준의 농도를 나타내었으나 LA를 투여한 실험군은 대조군에 비해 높은 수준의 농도를 나타내는 경향과 PDS를 투여한 군은 PDS를 투여하지 않은 군에 비해 낮은 수준의 경향을 보인 것은 Immunoglobulin A와 비슷한 경향을 보였다(Fig 3).

Serum IgM. 각 군의 Immunoglobulin M의 수준은 L군, LP군, C군 그리고 CP군이 각각 5856.2 ± 880.9 , 5436.5 ± 820.9 , 8842.6 ± 4570.3 그리고 6727.8 ± 2045.8 ng/ml로 나타났다. 각 군간의 차이는 유의성을 나타내지는 못하였으며, CLA를 투여한 군은 대조군에 비해 높은 수준의 경향을 보였고, PDS를 투여한 군은 PDS를 투여하지 않은 군에 비해 낮은 농도 수준의 경향을 보였다. L군과 LP군은 거의 비슷한 수준을 나타내었으나 L군이 다소 높게 나타났다(Fig 4).

Serum IgE. 각 군의 Immunoglobulin E의 수준은 L군, LP군, C군 그리고 CP군이 각각 234.4 ± 9.9 , 246.7 ± 10.3 , 231.9 ± 20.0 그리고 231.77 ± 15.78 ng/ml로 나타났다.

각 군간의 농도의 수준이 매우 유사한 경향을 보였으며 다른 Immunoglobulin과는 달리 LA를 첨가한 군이 CLA를 첨가한 군보다 다소 높게 나타났으며 또 PDS를 투여한 LP군이 PDS를 투여하지 않은 L군보다 높은 값을 나타내었다(Fig 5).

장관 내(gut lumen)에서의 분비성 IgA

Secretory IgA 각 군의 분비성 Immunoglobulin A의 수

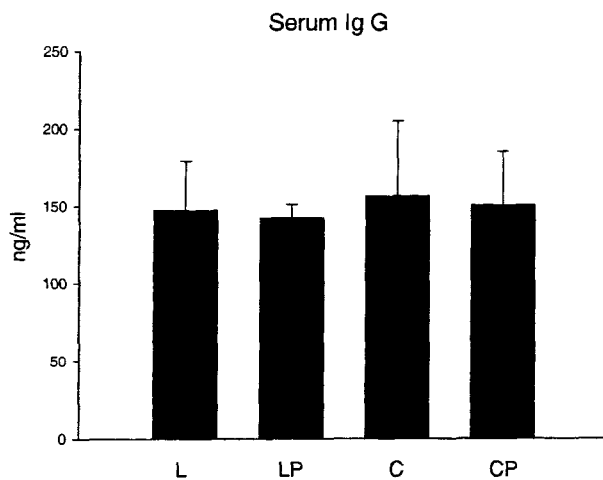


Fig 3. Serum Immunoglobulin G concentration
L : groups fed diet supplemented with 1% LA and pseudo-injected., LP : groups fed diet supplemented with 1% LA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19., C : groups fed diet supplemented with 1% CLA and pseudo-injected., CLP : groups fed diet supplemented with 1% CLA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19. Each bar represents the mean concentration of immunoglobulin and Y error bar is expressed as means \pm standard error (n = 8)

준은 L군, LP군, C군 그리고 CP군이 각각 11.2 ± 1.73 , 10.23 ± 1.36 , 24.8 ± 3.8 그리고 24.94 ± 4.15 ng/ml로 나타났다.

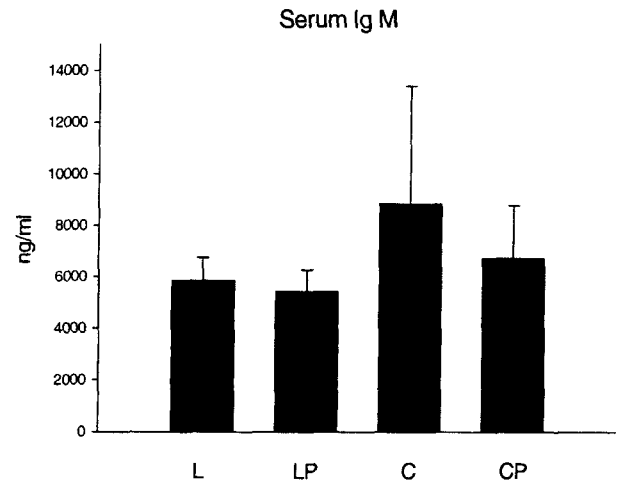


Fig 4. Serum Immunoglobulin M concentration
L : groups fed diet supplemented with 1% LA and pseudo-injected., LP : groups fed diet supplemented with 1% LA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19., C : groups fed diet supplemented with 1% CLA and pseudo-injected., CLP : groups fed diet supplemented with 1% CLA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19. Each bar represents the mean concentration of immunoglobulin and Y error bar is expressed as means \pm standard error (n = 8)

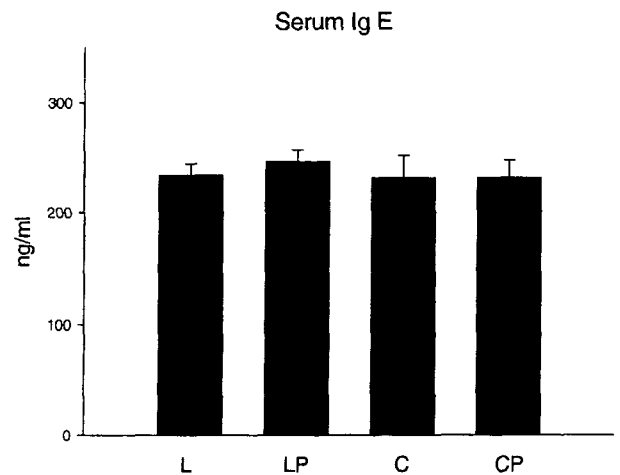


Fig 5. Serum Immunoglobulin E concentration
L : groups fed diet supplemented with 1% LA and pseudo-injected., LP : groups fed diet supplemented with 1% LA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19., C : groups fed diet supplemented with 1% CLA and pseudo-injected., CLP : groups fed diet supplemented with 1% CLA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19. Each bar represents the mean concentration of immunoglobulin and Y error bar is expressed as means \pm standard error (n = 8)

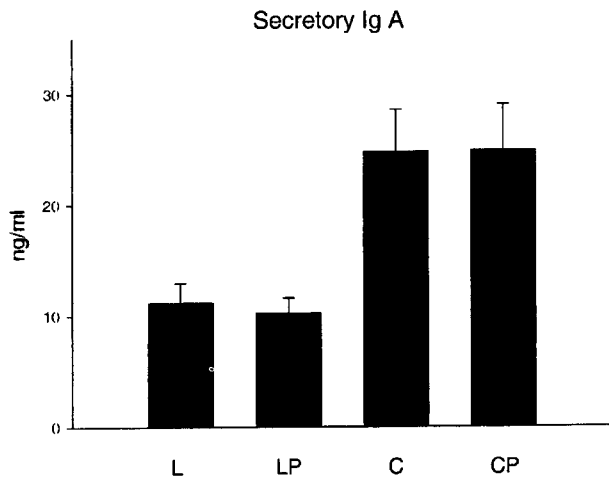


Fig 6. Secretory Immunoglobulin A concentration

L : groups fed diet supplemented with 1% LA and pseudo-injected., LP : groups fed diet supplemented with 1% LA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19., C : groups fed diet supplemented with 1% CLA and pseudo-injected., CP : groups fed diet supplemented with 1% CLA and administered with 5 mg/kg/day of PDS begun at 6/19. Values without a common letter are significantly different at $P < 0.05$. Each bar represents the mean concentration of immunoglobulin and Y error bar is expressed as means \pm standard error ($n = 8$)

CLA를 첨가하여 급여한 C군, CP군과 LA를 첨가하여 급여한 L군, LP군 사이에 유의성($P < 0.05$)을 나타내며 CLA를 첨가한 실험군이 높은 수준의 농도를 나타내었으며, PDS를 투여하지 않은 군(L군, C군)은 PDS를 투여한 군(LP군, CP군)보다 유의성은 없었지만 높은 수준의 농도를 나타내는 경향을 보였다(Fig 6).

고 찰

CLA의 농도를 1%로 정한 이유는 rats의 경우 0.5% 보다 1%에서 면역글로불린의 효과가 두드러졌기 때문이며²⁶, 0.5%와 1.5% CLA의 예비실험에서도 효과가 입증되었기 때문에 1%를 기준으로 삼았다.

Dietary CLA는 mouse의 body composition의 변화에 영향을 주어 체지방의 감소를 나타내므로 체중의 감소효과가 있다^{22,29}. 본 실험의 체중을 나타내는 그래프 상에서 그나마 증가를 나타낸 것은 성장기의 mouse라서 다른 근육이나 골격이 성장은 하고 있지만 체지방의 증가는 CLA의 영향으로 변화 내지는 감소하는 것으로 보여진다. PDS를 투여하기 시작한 날부터의 증체를 감소 추세는 PDS의 부작용 중의 하나로, 면역억압작용에 의한 것으로 볼 수 있는데 PDS 투여 3일 이후 CP군이 증체 경향을 회복한 것은 CLA의 immune stimulation에 의한 이화작용에 대한 예방효과로 보여진다²⁰. Mice에서는 endotoxin인 lipopolysaccharide로 유도한 체중의 감소효과를 저하시켰다⁵. CLA의 immune stimulation에 의한

catabolic suppressive 효과는 rat와 chicken에서도 비슷한 결과를 얻었다²⁰. 이상의 결과는 CLA가 복잡한 작용으로 prostaglandin의 합성이나 signal transduction 등에 관여하는 것으로 생각할 수 있다. 왜냐하면 immune stimulation에 의한 근육 대사의 증가는 성장과 같은 생물학적인 과정에 이용되는 energy를 빼앗기 때문이다.

혈청에서의 IgA, IgG, IgM 그리고 분비성 IgA에서의 농도 수준을 보면 CLA와 PDS를 동시에 투여한 CP군이 아무 것도 처리하지 않은 L군보다도 높은 경향을 보이는 것을 볼 수 있다. 이는 CLA가 PDS의 투여에 의한 면역성 저하 현상을 CLA의 투여에 의해 면역성을 증강시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

혈청과 장관 내 함유물에서 대부분 CLA나 LA의 단독 첨가군 보다는 PDS를 투여한 군이 낮은 수치를 기록하는 경향을 나타내고 있으며 이는 corticosteroids의 장기투여 시 나타나는 부작용으로 이해가 된다. 하지만 혈청에서 IgE의 경우 LP군이 L군보다 높게 나타났는데, 1978년 아토피성 천식을 앓고 있는 환자를 대상으로 한 실험에서는 15일간의 PDS 장기투여 후에 IgG는 22% 감소되고 IgA는 10% 감소한 반면 IgM은 변화가 없었고, IgE는 오히려 증가하였다²⁵, 이는 면역글로불린에 따라 PDS의 영향이 다를 수 있음을 의미한다. 또한 CLA의 음식으로부터 유래한 알러지 반응에 효과가 있는지를 알아보는 실험에서²⁶ CLA는 혈청에서 antiallergic factor로 작용하는 IgA와 IgG는 유의성 있는 증가를 나타내었는데, 이에 반해 음식물 알러지 반응을 유도시키는 IgE는 유의성 있는 감소를 일으키는 것으로 나타났다.

본 연구에서도 IgE는 혈청에서 다른 면역글로불린과는 달리 유의성은 없었지만 CLA를 섭취한 군(C군, CP군)이 LA를 섭취한 군(L군, LP군)보다 낮은 수준의 농도를 보이는 경향을 나타내었다. 이와 같은 사실은 흥미롭게도 CLA가 면역글로불린의 생산에 있어서 그 종류에 따라 특이적으로 작용하여 조절한다는 것을 말해주고 있다. 또한 PDS의 경우도 영향을 미치는 면역글로불린이 IgA와 IgG에 크게 감소를 시키고 오히려 IgE를 증가시키는 것은 CLA를 처치함으로써 인해서 특이적으로 IgA와 IgG의 감소를 예방 혹은 상승을 시키고 IgE는 감소를 시킴으로서 면역저하의 예방뿐만 아니라 알러지 반응도 예방이 가능할 것으로 보인다.

분비성 IgA는 소장 점막 표면에 가장 많이 존재하는 면역글로불린이며, mucosal immune system에 중요한 역할을 담당하는 성분이다. 분비성 IgA의 합성과 장관 내로의 분비는 bacteria와 virus의 점막 내피 세포로의 유착을 예방하는 역할을 한다¹. Mice와 rat에서 glucocorticoids의 physiological dose 및 high dose의 투여로 인한 mucosal surface에서의 IgA의 뚜렷한 감소로 gram-negative 고유 미생물총의 유착성의 증가가 보고되었다^{5,11}. 본 실험에서는 분비성 IgA가 CLA를 섭취한 군(C군, CP군)의 경우 매우 유의성 있는 증가를 보이고 있으며 PDS를 투여한 군에서도 매우 높은 수준의 농도를 유지하고 있어서 CLA는 장관계 면역에 매우 효과적인 작용을 하고 있는 것으로 보인다.

CLA의 PDS에 대한 임상적 적용에 있어서 면역성 증가효과를 보기 위해서는 일정 기간 이상의 섭취가 필요한데, CLA의 독성을 알아본 실험²³에서 40마리의 male rats를 두 그룹으로 나누어, 실험군에는 36주간 사료 당 백분율로 1.5%의 CLA를 섭취시켰는데도 어떤 독성의 징후를 발견할 수 없는 결과가 나와 안전성에서도 확인이 되었다.

CLA의 효과가 어느 정도 입증되었지만 이러한 연구는 아직은 시작단계이므로 앞으로 충분한 실험과 연구가 있어야 한다. 또한 CLA가 어떻게 이런 작용을 하는지 그 기작을 알아내기 위해서는 많은 연구가 요구된다. corticoids계열 약물의 부작용 해소 외에 다른 임상적 적용과 CLA의 면역증강효과가 얼마만큼 생명과학분야에서 진일보한 성과를 올릴지 기대된다.

결 론

본 연구는 면역성의 증강효과가 있는 것으로 알려진 다기능 지질신소재인 Conjugated linoleic acid(CLA)가 수의임상에서 자주 사용되는 prednisone의 투여로 인한 면역성 억압에 의한 부작용에 대한 예방효과를 확인하기 위하여 생쥐에게 CLA를 투여하였다.

또한 prednisone을 CLA 투여 후 3주째에 병용 투여하여 면역성을 억압시킨 후 혈청면역글로불린 IgA, IgG, IgM 및 IgE와 장관점막의 분비성 면역글로불린인 IgA의 역할을 측정할 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. CLA투여는 대조군에 비하여 유의성 있는 증체율의 저하를 나타냈으며($P < 0.05$), 또한 prednisone투여에 의한 체중감소율을 경감시키는 것으로 나타났으나 유의성은 없었다.
2. 혈청면역글로불린인 IgA와 IgG 및 IgM은 모두 prednisone단독 투여 군과 CLA의 병용투여 군간에 유의성은 인정되지 않았으나 CLA의 병용투여 군에서 높은 수준을 나타내었다.
3. 혈청면역글로불린인 IgE는 prednisone 단독투여에서는 면역성의 변화는 나타나지 않았으나 CLA와 병용투여에서 감소하여 다른 면역항체와는 다른 양상을 나타내었다.
4. 장관점막의 분비성 면역글로불린인 IgA는 prednisone과 CLA의 병용투여는 prednisone의 단독 투여보다 유의성 있는 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

이 결과를 종합하여 볼 때 CLA는 혈액에서의 IgA, IgG와 IgM, 그리고 장관내 분비성 IgA에 있어서 증가를 나타내 면역증강 효과가 있는 것으로 사료되어지며 앞으로 prednisone투여의 심각한 부작용인 면역억압 효과에 대해서 CLA의 임상적 적용으로 예방효과가 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Alverdy JC, Aoye E and Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 1988;

- 104: 185.
2. Berger A, German JB, Chiang BL, Ansari AA, Keen CL, Fletcher MP and Gershin ME. Influence of Feeding Unsaturated Fats on Growth and Immune Status of Mice. *AIN* 1993; 225-233.
3. Butler WT and Rossen RD. Effects of corticosteroids on immunity in man. I. Decreased serum IgG conc. caused by 3 or 5 days of high doses of methylprednisolone. *J Clin Invest* 1973; 52: 26-29.
4. Calder PC. Dietary Fatty Acids and the Immune System. *Nutrition Reviews* 1998; 56: S70-S83.
5. Charles R Wira, Carola P Sandoe and Micheal G Steele. Glucocorticoid regulation of the humoral immune system: In vivo effects of dexamethasone on IgA and IgG in serum and at mucosal surfaces. *The journal of immunology* 1990; 144: 142.
6. Chin SF, Storkson JM, Albright KJ, Cook ME, and Pariza MW. Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. *J Nutr* 1994; 124: 2344-2349.
7. Cochet O, Teillaud J and Sautes C. *Immunological Techniques Made Easy* WILEY 1998.
8. Dannenberg AM Jr. The antiinflammatory effects of glucocorticosteroids: a brief review of the literature. *Inflammation* 1979; 3: 329.
9. Doyle E. *Scientific Forum Explores CLA Knowledge*. *INFORM* 1998; 9: 69-72.
10. Elson CO, Ealding W and Lefkowitz J. A Lavage Technique Allowing Repeated Measurement of IgA Antibody in Mouse Intestinal Secretion. *J of Immunological Methods* 1984; 67: 101-108.
11. Gennari R, Alexander JW. Arginine, glutamine and dehydroepiandrosterone reverse the immunosuppressive effect of prednisone during gut-derived sepsis. *Crit Care Med* 1997; 25(7): 1207.
12. Ha YL, Grim NK and Pariza MW. Anticarcinogens from Fried Ground Beef: Heat-Altered Derivatives of Linoleic Acid. *Carcinogenesis* 1987; 8: 1881-1887.
13. Ha YL, Storkson J and Pariza MW. Inhibition of benzo[α]pyrene induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res* 1990; 50: 1097-1101.
14. Hauman BF. Conjugated Linoleic Acid, Offers Research Promise. *INFORM* 1996; 7: 152-159.
15. Houseknight KL, Vanden Heuvel JP, Moya-Camarena SY, Peck LW, Portocarrero CP, Nickel KP and Belury MA. Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem Biophys Res Comm* 1998; 244: 678-682.
16. Ip C, Chin SF, Scimeca JA, and Pariza MW. Mammary Cancer prevention by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res* 1991; 51: 6118-6124.
17. Ip C, Scimeca JA and Thompson HJ. Conjugated Linoleic Acid, A powerful Anticarcinogen from Animal Fat Sources. *Cancer* 1994; 74: 1050-1054.
18. Kjerrulf M, Grdic D, Kopf M and Lycke N. Induction of Gut Mucosal Immune Responses: Importance of Genetic Background and Th1/Th2 Cross-Regulation. *Scand J Immunol* 1998; 47: 401-407.
19. Lee KN, Kritchevsky D, and Pariza MW. Conjugated linoleic

- acid Atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 1994; 108: 19-25.
20. Miller CC, Park Y, Pariza MW and Cook ME. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 198: 1107-1112.
 21. Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JA and Huth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Atherosclerosis* 1997; 22: 266-277.
 22. Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME and Pariza MW. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids* 1997; 32: 853-858.
 23. Scimeca JA. Toxicological Evaluation of Dietary Conjugated Linoleic Acid in Male Fischer 344 Rats. *Food and Chemical Toxicology* 1997; 36: 391-395.
 24. Seifert ME and Watkins BA. Role of dietary lipid and antioxidants in bone metabolism. *Nutr Res* 1997; 17: 1209-1228.
 25. Settipane GA, Pudupakkam RK and McGowan JH. Corticosteroid effect on immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 3: 162-166.
 26. Sugano M, Tsujita A, Yamasaki M, Noguchi M and Yamada K. Conjugated Linoleic Acid Modulates Tissue Levels of Chemical Mediators and Immunoglobulins in Rats. *Lipids* 1998; 33: 521-527.
 27. Tito C, Kerry G, Norman AG. Murine Lupus Nephritis Effects of glucocorticoid on circulating and tissue bound immunoreactants. *Laboratory Investigation* 1983; 49(4): 476.
 28. Thom E. A pilot study with the aim of studying the efficiency and tolerability of Tonalin CLA on the body composition in humans. *Medstat Res Ltd* 1997; Oslo Norway.
 29. West DB, DeLany JP, Camet PM, Bolhm F, Truett AA and Scimeca J. Effects of Conjugated Linoleic Acid on Body Fat and Energy Metabolism in the Mouse. *Am J Physiol Reg* 1988; 1(44): R667-R672.