

살모넬라 LPS를 주입한 육계병아리에 있어서 사료 중 크릴 밀 수준이 생산성과 면역반응에 미치는 영향

임진택 · 박인경 · 고태송

건국대학교 동물생명과학대학 동물생명과학부

Effect of Dietary Krill Meal Levels on Performance and Immune Response of Broiler Chicks Injected with *Salmonella typhimurium* Lipopolysaccharide

J. T. Im, I. K. Park and T. S. Koh

Department of Animal Life Sciences, College of Animal Life Sciences, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

ABSTRACT

In this study, the effects of dietary krill meal levels on cellular immunity in LPS-injected broiler chicks was evaluated. One day-old male broiler chicks (Ross) were fed on the experimental basal meal (0.0% krill meal), or diets containing 0.5%, 1.0% and 2.0% krill for 3 weeks, and the acute phase response was activated by intraperitoneally injection of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide (LPS) 3 times at 9, 11, and 13 days of age. 1. Acute phase response induced a significant reduction ($p<0.05$) daily weight gain and feed intake, and increases in liver and spleen weight. However, it was not affected by dietary krill meal levels. 2. The krill meal diets reduced TNF- α activity as compared to the basal diet after 24 hours (acute phase response) and 1 week (recovery from the acute phase response) following LPS injection ($p<0.05$). The acute phase response induced a significant increase ($p<0.05$) in TNF- α activity relative to the control in chicks fed on a basal diet, but this was also unaffected by dietary krill meal levels. 3. Acute phase response-mediated ovotransferrin levels (relative to what was measured in the control bird) were increased in birds fed on the basal, 1.0% and 2.0% krill diets, and were reduced in birds fed on the 0.5 % krill diet. 4. In LPS-injected chicks, 1.0% and 2.0% krill meal diets induced a significant reduction ($p<0.05$) the Con A-induced proliferation of PBMC and splenocytes relative to what was observed in the chicks fed on a 0.5% krill diet, whereas the splenocytes proliferated in a linear fashion with the krill levels in the diets of the control birds.

The results showed that the dietary levels of krill meal reduced TNF- α activity in the blood and also influenced blood ovotransferrin levels and the proliferation of PBMC and splenocytes, and krill meal is considered to be associated with both innate and cellular immunity in broiler chicks.

(Key words : Lipopolysaccharide (LPS), Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Proliferation of PBMC and splenocytes, Krill meal, Broiler chicks)

Corresponding author : Koh, T. S. Department of Animal Life Sciences, Konkuk University, Gwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea
Tel : 82-02-450-3698 Fax : 82-02-455-1044 E-mail : tskoh@konkuk.ac.kr

I. 서 론

그람 음성균의 세포외벽을 형성하는 당지질(Chaby, 1999)인 LPS (lipopoly saccharide)는 lipid A (지질 A)와 연결된 핵심 올리고 당 부위 및 올리고 당 중합체(O 항원)로 구성된다(Manzo 등, 2001). LPS에 노출된 숙주는 여러 가지 생리적, 면역적, 대사적 및 행동적인 변화를 개시하며(Berczi, 1998), 단구세포/대식세포(monocyte/macrophage)가 이러한 염증반응에 중심적인 역할을 한다. 이들 세포의 CD14 수용체와 LPS의 상호작용 결과 TNF- α (tumor necrosis factor- α), IL-1 (interleukin-1), IL-6 및 IL-8과 같은 친염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine)들의 분비가 일어난다(Rietschel 등, 1998).

이들 친염증성 사이토카인들의 주입은 LPS에 대한 동물의 반응과 유사한 반응을 일으킨다(Okusawa 등, 1988). 한편 TNF- α 에 대한 항체로 동물을 수동면역 시키면 패혈증(sepsis) 쇼크시 생존율이 개선되고(Beutler 등, 1985), 패혈증에 가장 먼저 나타나는 TNF- α 는 LPS 주입 후 90분에 발견되고 2시간 동안 지속되며, 뒤를 이어 IL-1과 IL-6가 분비된다(Givalois 등, 1994; Ottaway 등, 1998). TNF- α 는 발열(Dinarello 등, 1986), 대사적 변화(Tracey 등, 1990) 및 시상하부-뇌하수체 축의 활성화(Perlstein 등, 1993) 등 LPS 노출시의 특징들을 발생시키는 신호를 전달한다.

가금에서도 LPS 주입은 감염부위의 대식세포와 헤테로필(heterophil) 등 면역세포들을 활성화하고 IL-1, IL-6, 또는 TNF- α 등 친염증성 사이토카인들을 분비하며, 이들은 사료섭취와 활동성을 감소시키고(Leshchinsky와 Klasing, 2001; Klasing, 1994), 간장에서 오보트렌스페린(ovotransferrin) 등 급성기 단백질을 합성하여 분비하는 신호로 작용한다(Xie 등, 2000). 이러한 동물체의 항상성을 유지하는 생리적, 대사적 변화를 급성기 반응(acute phase response)이라 한다(Klasing, 1998; Xie 등, 2002).

포유류에서 면역계는 대식세포와 뉴트로필등에 의한 선천 면역과 T 임파구에 의한 세포성 면역 및 B 임파구의 항체생산과 관련된 체액성

면역으로 구성되는 획득면역으로 나뉜다(Abbas와 Lichtman, 2005). 조류에서도 획득 면역은 체액성 및 세포성 면역반응으로 이루어진다. 체액성(항체성) 면역 반응들은 세포외 항원들을 효과적으로 처리하고, 세포성 면역반응은 세포내 항원들을 제거하는 특징이 있다. 세포내 항원들은 세포합입경로(병원성 세균과 같은 외인성 항원)로 들어간 것과 세포내 바이러스 단백질들이나 세포의 중앙변성으로 형성된 단백질등과 같은 내인성 항원들을 포함한다(Erf, 2004). 세포성 면역 반응들은 type 1 T helper (Th1) 임파구들에 의해 조절되며, Th1 임파구들은 IFN- γ (interferon- γ), TNF- α 및 IL-1과 같은 사이토카인들을 생산하는 특징이 있다. 세포성 면역 반응은 CTL (cytotoxic T lymphocytes)과 NK세포 및 대식세포에 의하여 작동된다. CTL과 대식세포는 각각 내인성 및 외인성 항원들을 제거하는 특징이 있다(Erf, 2004).

동물사료로 가공한 남빙양 크릴(*Euphausia superba*) 밀(수분 10.6%)에는 조지방이 12.4% 함유되고(Grantham, 1977), 이중에서 PUFA가 40% 함유된다. 크릴 밀 조지방의 지방산 조성을 보면 n-3 PUFA (n-3 polyunsaturated fatty acid)인 EPA (eicosapentanoic acid)가 18.4% 그리고 DHA (docosahexanoic acid)가 11.1%가 함유되어 있는 것이 특징이라 할 수 있다(Cripps와 Atkinson, 1999 고 등, 2004).

육계병아리에 급여한 크릴 밀 0.5 및 1.0% 사료는 복강내 주입된 LPS가 급성기 면역반응을 활성화 시켰을때 증체량을 감소시켰으나, 급성기 반응에서 회복중에는 생산성 감소를 완화시켰다(고 등, 2004). 또한 사료중 크릴 밀은, 선천 면역반응이 활성화한 육계병아리에서 노산배설량의 증가로 질소밸런스를 낮추고, 사료의 MEn 값을 높여 사료 에너지 이용성에 영향을 미쳤다(임 등, 2003). 박 등(2004)은 육계병아리에 2.0% 크릴 밀 사료를 급여했을 때 간세포액의 CuZnSOD 활성이 크릴 밀의 종류에 따라 달랐으며, 고 등(2004)은 사료중 크릴 밀 수준에 따라 적혈구 세포액중의 MnSOD와 CuZnSOD 활성을 높아지는 현상을 관찰하였다. 한편 크릴 밀 사료를 급여한 육계병아리에서

PHA-p (phytohemagglutinin-p) 과민증으로 조사한 CTL 증식이 증가하는 경향을 보였다(고 등, 2004, 박 등, 2004).

이와 같이 사료 중 크릴 밀이 선천 면역 반응에 미치는 영향은 조사되었으나 획득 면역과 관련된 세포성 면역에 미치는 영향은 연구되지 않았다. 따라서 본 연구는 사료 내 크릴 밀 첨가수준을 달리한 사료가 육계병아리의 세포성 면역에 미치는 영향을 평가하기 위하여 혈중 TNF- α 활성과 ovotransferrin 수준 그리고 PBMC (peripheral mononuclear cells)와 비장세포의 증식도를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물 및 실험설계

갓 부화된 육계병아리 (Ross) 수컷에 1일령부터 실험사료를 급여하였다. 실험사료는 기초사료(Table 1)와 기초사료 중 대두박 대신 크릴 밀이 0.5, 1.0 또는 2.0%가 각각 대치된 4가지 사료이다. 육계병아리는 실험사료당 6개 우리와 우리당 5수씩 24개 우리에 120수를 각각 배분하고 온도가 조절되는 사육실에서 3주간 물과 사료를 자유로 급여하여 실험 사육하였다. 각 실험 사료구(6개 우리)의 절반인 3개 우리 육계병아리는 2주령인 9, 11, 13일령에 면역원인 *Salmonella typhimurium* LPS 용액을 1수당 3.0 ml (300 μ g/수)씩 복강내에 주입하였다. *Salmonella typhimurium* LPS (Sigma Co., USA) 100 mg을 0.9% 염용액 (NaCl 9 g /1,000 ml) 1,000 ml에 용해하고, 0.22 μ m 필터로 여과 멸균하여 면역원으로 사용하였다.

2. 생산성, 간장과 비장 무게 및 혈장 분리

급성기 반응이 활성화한 2주령 육계병아리 8일과 14일령에 각 실험 사료별로 체중을 측정하여 일당증체량을 계산하였다. 매일 동일한 시각에 정확히 24시간 간격으로 사료를 급여하고 잔량을 기록하여 계산한 사료섭취량과 일당증체량으로 사료효율을 계산하였다.

Table 1. Composition (g/kg) of basal diet and experimental diet (NRC, 1994)

Ingredients	g/1000g
Ground yellow corn (8.8% Protein)	596
Soybean meal (48.5% Protein)	355
DL-Methionine	2.5
Soybean oil	5.0
Choline HCl (50%)	1.5
(Iodized) Salt	5.0
CaCO ₃	10.0
CaHPO ₄ 2H ₂ O	20.0
Vitamin mix ¹⁾	2.5
Mineral mix ²⁾	2.5
Krill meal	—
Total	1,000g

¹⁾ Vitamin mix provided the following per kg diet vitamin K 0.55 mg, antioxidant 125 mg, vitamin E 10 IU, vitamin D₃ 400 IU, vitamin A 1,500 IU, biotin 0.15 mg, folacin 0.55 mg, pyridoxine HCl 3 mg, niacin 25 mg, Calcium panthothenate 10 mg, Riboflavin 3.6 mg, Thiamin. HCl 1.8 mg.

²⁾ Mineral mix provided the following per kg diet MnSO₄ H₂O 170 mg, ZnSO₄ H₂O 110 mg, Ferric citrate 500 mg, CuSO₄ 5H₂O 16 mg, Na₂SeO₃ 0.2 mg.

마지막 LPS 주입 24시간 뒤인 14일령과 급성기 반응 1주일 후인 21일령에 각 우리별로 임의 선발한 육계병아리는 무게를 측정하고 심장천자로 혈액을 헤파린처리 주사기로 채취하고 경추골 분리로 희생시켰다. 복부 절개로 적출한 간장과 비장은 PBS로 세척 후 측정된 무게의 체중비를 계산하였다. 혈액의 일부는 3,000 rpm에서 15분간 원심 후 상등액인 혈장은 0.22 μ m 필터로 여과멸균하고 소분하여 혈중 TNF- α 활성과 오보트렌스웨린 수준의 분석에 이용시까지 -80 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

3. PBMC와 비장세포 분리

혈액은 튜브에서 PBS (pH 7.4)로 2배 희석하고 동량의 비중액 (Histopaque, Density = 1.077 g/ml, Sigma Co., USA)을 넣어 2,000 rpm (800 \times g)에서 15분간 원심하였다. 비중액과 배양액의 중간층에 형성된 buffy coat층을 취하여,

5% FBS 함유 RPMI-1640 배양액(배양액)으로 현탁하였다. 현탁액은 1,200 rpm에서 10분간 원심하여 상등액을 제거하고 PBMC 펠렛층을 얻었다. PBMC는 배양액에 현탁하여 원심하는 과정을 2회 반복하여 세척 후, 현미경과 Hemacytometer로 배양액에 현탁한 PBMC 세포수를 세어 배양액으로 ml 당 PBMC 2.0×10^6 개로 조정하였다.

비장은 육계병아리 14일령과 21일령에 적출하여 petri dish에서 직경 200 μ m 나일론 망을 얹은 후 배양액 3 ml를 넣어 으깨었다. 흘러나온 비장세포 현탁액은 주사기로 흡입 후 나일론 망위에 분사하여 결합조직으로부터 비장세포를 분리하였다. 비장세포 현탁액과 동량의 비중액을 넣은 15 ml 튜브는 2,000 rpm(800 \times g)에서 15분간 원심하였다. 원심 후 배양액과 buffy coat 층을 취해 배양액으로 현탁하였다. 비장세포 현탁액을 1,200 rpm에서 10분간 원심한 후 상등액을 제거하고 비장세포 펠렛층을 얻는 방법을 2회 반복하여 비장세포를 세척하였다. 현미경과 Hemacytometer로 배양액에 현탁한 비장세포포수를 세고, 배양액으로 ml 당 2.0×10^6 개로 비장세포수를 조정하였다.

4. 혈중 TNF- α 활성

급성기 반응중(14일령)과 회복중(21일령)인 육계병아리에서, 혈중 TNF- α 활성은 혈장 샘플과 rh TNF- α (Sigma Co., USA)의 L929 세포주 괴사정도를 비교하여 조사하였다 (Flick과 Gifford, 1984). 배양액으로 배양한 L929 세포주는 ml 당 2.5×10^5 개 세포로 조정하고 96well plate(Nunc Co., Denmark)에 100 μ l (2.5×10^4 세포)/well를 분주하여 37 $^{\circ}$ C와 CO₂ 5% 배양기에서 하룻밤 배양하였다. 배양액을 제거한 각 well에 5배 희석 혈장 100 μ l와 TNF- α (Sigma Co., USA) 표준용액 100 μ l(5 ng)를 첨가하였다. rh TNF- α 표준용액은 그 농도가 2.44 pg/well가 될 때까지 배양액으로 연속 희석하였다. 모든 well에 Actinomycin D (Sigma, USA) 10 μ l(0.2 μ g)를 첨가하여 20시간 더 배양하였다. 배양 20시간째에 10 μ l(10%)/well의 alamar blue (Serotec,

USA)를 첨가하여 4시간 더 배양하고(임 등 2007), ELISA 리더 (Biotek, USA)로 570 nm에서 600 nm (reference) 값을 뺀 광학밀도 값을 측정하였다. 혈장과 배양하여 얻어진 광학밀도 값을 rh TNF- α 에서 얻은 표준곡선 값에 대입하여 TNF- α 활성을 계산하였다.

5. 혈장 단백질과 Ovotransferrin

급성기 반응중인 육계병아리 (14일령)의 10배 희석 혈장내 단백질들은 SDS가 함유되지 않은 비환원 시료완충액에서 acrylamide 10% 겔에 전기영동(SDS-PAGE: sodium dodecyl sulfate polyacryl amide gel electrophoresis) 하여 전개시켰다. 쿠마시블루용액으로 염색한 후 겔 상에 나타난 단백질 밴드들 중에서 분자량 65와 49 kDa 단백질의 농도를 영상분석장치(image analyzer, Vilber lourmat, France)의 농도계법으로 측정하였다.

SDS-PAGE 겔상의 혈장단백질을 NC막(nitrocellulose membrane)에 이전시킨 뒤 TBST (tris buffered saline with tween 20)로 1,000배 희석한 항-가금 ovotransferrin 항체(anti-chicken ovotransferrin antibody from rabbit serum, Acurate chemical, AIA8240)와 결합시켰다. NC막의 혈장 단백질들은 다시 secondary antibody 용액(monoclonal anti-rabbit IgG γ -chain specific peroxidase conjugated, Sigma Co., A-1949)과 결합시켰다. 암실에서 Hyper film(Amersham, HP7 9NA)을 이용하여 ECL용액으로 발광하는 항체 특이적으로 반응한 분획(65kDa)이 ovotransferrin이므로 앞서 영상분석장치로 정량한 그 밴드를 ovotransferrin 농도로 하였다 (Xie 등, 2002).

6. PBMC와 비장세포 증식도

PBMC와 비장세포의 증식도는 본 연구실에서 이전에 수행했던 alamar blue를 이용한 PBMC와 비장세포 증식도 연구(임 등, 2007)를 기초로 측정하였다. PBMC 현탁액은 96 well plate에 50 μ l (10^5 개)/well씩 분주하여 37 $^{\circ}$ C와 CO₂ 5%에서 배양하였다. 배양 4시간째에 Con

A용액 (10 µg/ml)을 40 µl/well씩 넣어 PBMC의 증식을 자극하고, 20시간째에 alamar blue 용액 10 µl(10%)/well를 첨가하여 4시간 더 배양한 후 ELISA 리더로 광학밀도 570 nm에서 600 nm를 뺀 값으로 PBMC 증식도를 평가하였다.

비장세포 현탁액 50 µl (10⁵)/well씩 분배한 96 well plate를 37°C와 CO₂ 5%에서 배양하였다. 배양 12시간째에 Con A용액 (10 µg/ml)을 40 µl/well씩 넣고, 24시간째 10 µl(10%)/well의 alamar blue를 첨가하여 24시간 더 배양한 다음 ELISA 리더로 광학밀도 570 nm에서 600 nm를 뺀 값으로 비장세포 증식도를 측정하였다.

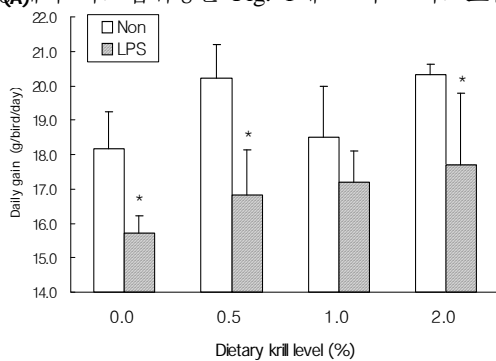
7. 통계처리

실험데이터는 면역원과 크릴 밀 수준의 2원 배치 분산분석을 SAS프로그램의 GLM법으로 주효과 및 상호관계를 조사하였다. 주효과가 유의하면 ($p < 0.05$) 평균 값사이의 유의 차는 SAS의 최소 유의 차 값과 Student's t 값으로 검정하였고, $p < 0.10$ 값은 경향을 나타내는 것으로 하였다.

III. 결 과

1. 생산성

급성기 반응중인 2주일령 육계병아리의 일당 증체와 사료섭취량은 Fig. 1에 그리고 사료효율



은 Fig. 2에 사료중 크릴 밀 수준의 영향을 각각 나타내었다. 사료중 크릴 밀은 급성기 반응 유도와 관계없이 일당증체에 유의한 ($p=0.38$) 영향을 미치지 않았다 (Table 2). 급성기 반응은 사료의 종류에 관계없이 대조구에 비해 일당증체와 사료섭취량 ($p=0.003$)을 유의하게 감소시켰다. 그러나 크릴 밀 1.0% 사료를 급여하면 급성기 반응과 대조 사이에 일당증체 및 사료섭취량의 차가 유의하지 않았다. 사료효율은 사료중 크릴 밀 수준이나 급성기 반응에 의한 유의한 영향이 없었다. 대조구에서 크릴 밀 2.0% 사료섭취량은 크릴 밀 1.0% 사료에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 증가하였다. 한편 급성기 반응중인 육계병아리의 사료섭취량은 사료중 크릴 밀 수준의 영향이 없었다.

2. 간장과 비장무게

급성기 반응중인 육계병아리의 간장과 비장무게에 미치는 크릴 밀 사료의 영향을 Fig. 3에 나타내었다. 급성기 반응은 간장 ($p=0.01$)과 비장 ($p=0.0005$)의 무게를 사료중 크릴 밀 수준과 관계없이 유의하게 증가시켰다 (Table 2). 그러나 크릴 밀 0.5% 사료를 급여하면 간장과 비장무게는 급성기 반응과 대조사이에 유의차가 없었다. 급성기 반응중인 병아리의 비장무게는 기초사료 급여에 비해 크릴 밀 0.5% 사료 급여 시 유의하게 ($p < 0.05$) 낮았으나, 크릴 밀 수준에 따라 점차 증가하였다. 대조구에서 간장과 비

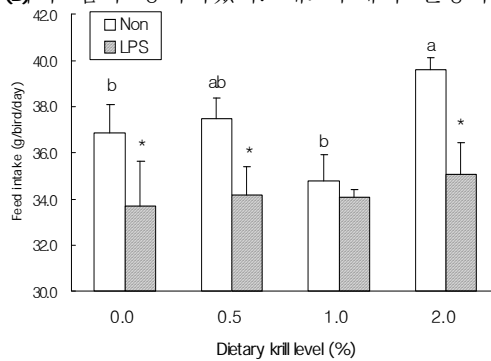


Fig. 1. Effect of dietary krill meal levels on daily gain(A) and feedintake (B) of broilers chicks injected with LPS.

Values are mean ± SE of three pens.

a~b: Means with different superscript among diets in same treatment, and *: means between Non and LPS in a same diet differ significantly at $p < 0.05$, respectively.

Table 2. *p* values for factorial analysis in effect of dietary krill levels on performance and organ weight

	Gain	Feed intake	Feed efficiency	Liver	Spleen
Diet	0.38	0.15	0.70	0.19	0.15
LPS	0.01	0.003	0.27	0.01	0.0005
Diet × LPS	0.86	0.46	0.96	0.37	0.48

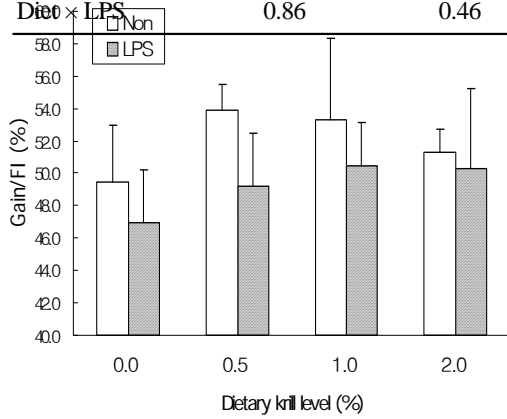


Fig. 2. Effect of dietary krill meal levels on feed conversion efficiency of broilers chicks injected with LPS.

Value are mean ±SE of three pens.

장 무게는 크릴 밀의 수준 증가에 따라 감소하는 경향을 나타냈으며, 크릴 밀 2.0% 사료 급여시 0.0% (기초)사료 급여에 비해서 유의하게 ($p < 0.05$) 낮았다. 그러나 급성기 반응중에는 간장과 비장무게에 미치는 크릴 밀 수준의 영향

이 없었다.

3. 혈중 TNF- α 활성

급성기 반응중(14일령)과 급성기 반응에서 회복중인(21일령) 육계병아리 혈액중 TNF- α 활성을 Fig. 4에 나타내었다. 육계병아리 14일령의 혈중 TNF- α 활성은 크릴 밀 사료의 급여로 급성기 반응과 관계없이 기초사료에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 낮았으나, 크릴 밀 수준에 따른 영향은 없었다. 기초사료를 급여한 육계병아리에서 급성기 반응은 대조병아리에 비해서 혈중 TNF- α 활성을 유의하게 증가시켰으나 ($p < 0.05$), 크릴 밀 사료를 급여한 육계병아리에서는 혈중 TNF- α 활성이 급성기 반응으로 증가하지 않았다.

급성기 반응을 경험한 21일령 육계병아리에서, 혈중 TNF- α 활성은 14일령 급성기 반응중인 혈액의 TNF- α 활성 변화와 유사한 경향을

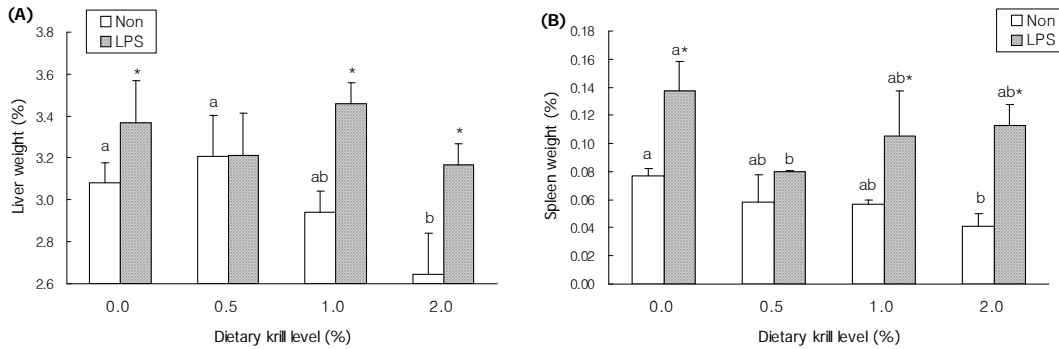


Fig. 3. Effect of dietary krill meal levels on relative liver (A) and spleen (B) to body weight in broiler chicks after 24 h LPS stimulation.

Values are mean ±SE of three birds (a chicks per pen).

a~b: Means with different superscript among diets in same treatment, and * : means between Non and LPS in a same diet differ significantly at $p < 0.05$, respectively.

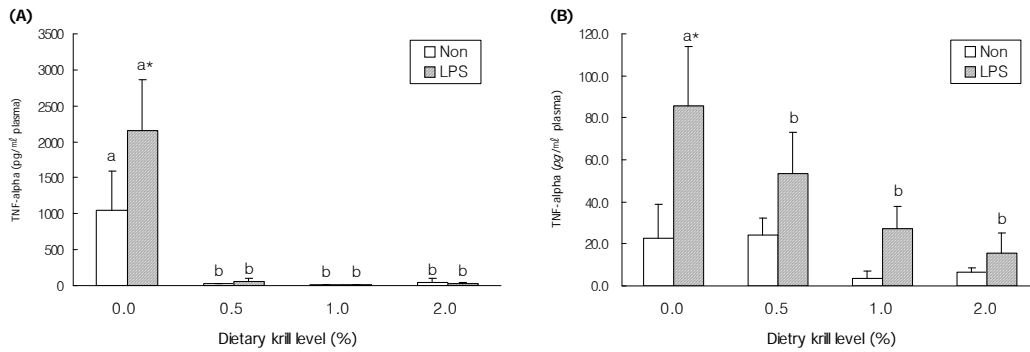


Fig. 4. Effect of dietary krill meal levels on the concentrations of TNF- α like activity in plasma of male broiler chicks during (A) the acute phase response and restoration (B) from the acute phase response.

Values are mean \pm SE of TNF- α like activity in plasma of three birds(a chick per pen).

a~b: Means with different superscript among krill meal level in same treatment, and * : means between Non and LPS in a same diet differ significantly at $p < 0.05$, respectively.

보였다. 크릴 밀 사료의 급여로 크릴 수준에 관계없이 기초사료에 비해 혈중 TNF- α 활성이 낮았다 ($p < 0.05$). 급성기 반응 경험은 기초사료를 급여하면 육계병아리의 순환 TNF- α 활성을 대조에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 높였으나, 크릴 밀 사료급여시에는 급성기 반응과 대조사이에 유의한 영향이 없었다.

4. 혈중 Ovotransferrin

급성기 반응중인 육계병아리 혈액중 65 kDa 과 49 kDa 단백질의 전기영동상(SDS-PAGE) (A)과 영상분석장치로 분석한 혈장 65 kDa 단백질(ovotransferrin) 수준의 변화에 미치는 크릴 밀 수준의 영향을 Fig. 5에 나타내었다. 급성기 반응중인 병아리 혈장에서 관찰된 단백질 밴드 중에서 65 kDa과 49 kDa 단백질이 사료중 크릴

밀 수준에 따라 변화하였다. SDS-PAGE 젤상의 단백질들을 NC 막으로 이전시키고 항-가금 ovotransferrin 항체와 결합시킨 뒤 ECL 용액에 발광하는 65 kDa 밴드가 Fig. 5에 보인 바와 같이 ovotransferrin임을 확인하였다.

급성기 반응은 대조에 비해 혈중 ovotransferrin의 수준을 기초사료를 급여하면 증가시키나 크릴 밀 0.5% 사료를 급여한 육계병아리에서는 감소시키고, 크릴 밀 1.0 및 2.0% 사료를 급여하면 증가시켰다. 급성기 반응중인 육계병아리에서 순환 ovotransferrin 수준은 기초사료를 급여한 것에 비해 크릴 밀 사료를 급여하면 낮아지나, 크릴 밀 사료를 급여한 것 중에는 크릴 밀 수준이 높아짐에 따라 높아지는 경향을 보였다. 대조구의 육계병아리에서 순환 ovotransferrin 수준은 기초사료와 크릴 밀 0.5% 사료를 급여한 것에 비해 크릴 밀 1.0 및 2.0% 사

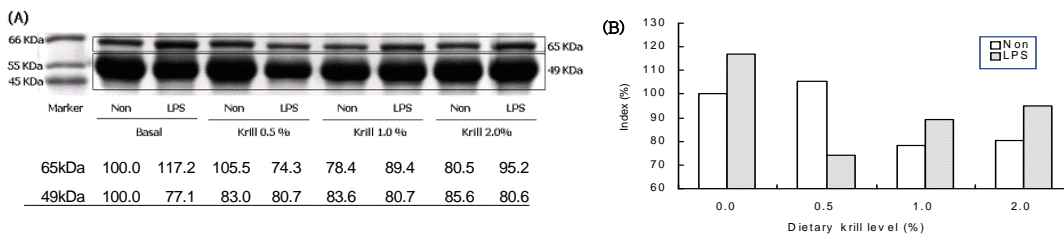


Fig. 5. Effect of dietary krill meal levels on 65 kDa (ovotransferrin) and 49 kDa protein pattern in plasma of male broiler chicks injected with LPS. (A) : Plasma protein profile, (B) : Ovotransferrin (65 kDa) level.

Values are index to the level in blood of normal chicks fed basal diet.

료를 급여한 육계병아리에서 낮았다.

5. PBMC 증식도

급성기 반응중인 육계병아리 PBMC를 Con A (10 µg/ml)로 자극했을 때의 증식도에 미치는 사료중 크릴 밀 수준의 영향을 Fig. 6에 나타내었다. 급성기 반응중인 육계병아리에서 PBMC 증식도에 미치는 사료 ($p<0.0001$), 급성기 반응 ($p=0.0005$) 및 급여사료와 급성기 반응 ($p<0.0001$)의 상호작용은 유의하였다 (Table 3). 급성기 반응중인 육계병아리에서 PBMC 증식도는 Fig. 6에 보이고 있는 바와 같이 대조에 비해서 기초사료와 크릴 밀 0.5% 사료의 급여로 유의하게($p<0.05$) 증가하였으나, 크릴 밀 1.0 및 2.0% 사료에서는 유의하게 감소하였다. 급성기 반응중인 육계병아리에서 PBMC 증식도는 크릴 밀 0.5% 사료 급여에 비해 크릴 밀 1.0과 2.0%의 사료급여로 유의하게($p<0.05$) 낮아졌다. 한편 대조의 육계병아리에서는 PBMC 증식도가 크릴 밀 2.0% 사료의 급여로 크릴 밀 0.5 및 1.0% 사료와 기초사료에 비해서 유의하게 ($p<0.05$) 낮았다.

6. 비장세포 증식도

급성기 반응중과 회복중인 육계병아리의 비장세포를 각각 Con A (10 µg/ml)로 자극했을 때의 증식도에 미치는 사료중 크릴 밀 수준의 영향을 Fig. 7에 나타내었다. 비장세포 증식도에 미치는 사료 ($p=0.0006$), 급성기 반응 ($p<0.0001$) 그리고 사료와 급성기 반응의 상호작용($p<0.0001$)은 유의하였다 (Table 3). 급성기 반응중인 육계병아리에서 비장세포의 증식도는 대조

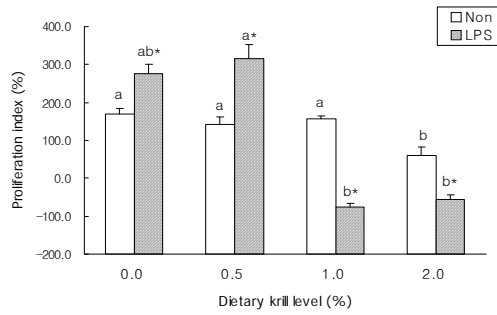


Fig. 6. Effect of dietary krill meal levels on the proliferation of PBMC of blood in male broiler chicks after 24 h LPS stimulation.

Values are mean \pm SE of three birds. Values are indices to differences between optical density in 570 and 600 nm of PBMC proliferation without Con A treatment in birds fed basal diet. a~b: Means with different superscript among diets in same treatment, and *: means between Non and LPS in a same diet differ significantly at $p<0.05$, respectively.

병아리에 비해서 기초사료의 급여로 유의하게 ($p<0.05$) 증가하나, 크릴 밀 0.5% 사료 급여시에는 유의차가 없었고, 크릴 밀 1.0과 2.0% 사료 급여시에는 유의하게 ($p<0.05$) 감소하였다.

급성기 반응에서 회복중인 21일령 병아리의 비장세포 증식도는 사료 ($p=0.05$), 급성기 반응의 경험 ($p<0.0001$) 그리고 사료와 급성기 반응의 상호작용 ($p=0.03$)의 유의한 영향이 있었다 (Table 3). 급성기 반응을 경험한 병아리의 비장세포 증식도는 사료의 종류에 관계없이 대조에 비해서 유의하게 ($p<0.05$) 감소하였다. 급성기 반응을 경험한 육계병아리에서 비장세포 증식도는 기초사료에 비해 크릴 밀 0.5 및 2.0% 사료의 급여로 유의하게 높았고, 크릴 밀 1.0%

Table 3. p values for factorial analysis effect of dietary krill levels on TNF- α like activity and proliferation of PBMC and splenocytes

	During acute phase response			Restoration from the acute phase response	
	TNF- α	PBMC	Splenocyte	TNF- α	Splenocyte
Diet	0.0002	<.0001	0.0006	0.05	0.05
LPS	0.24	0.0005	<.0001	0.01	<.0001
Diet \times LPS	0.26	<.0001	<.0001	0.37	0.03

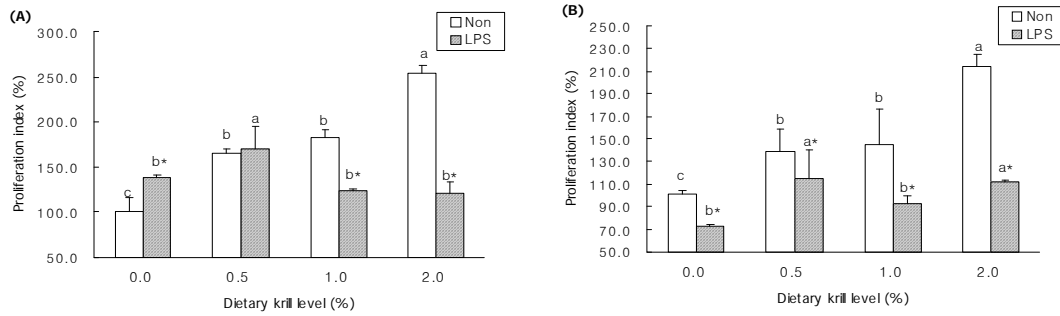


Fig. 7. Effect of dietary krill meal levels on the proliferation of splenocytes of male broiler chicks during (A) and restoration from (B) the acute phase response.

Values are mean \pm SE of three birds. Values are indices to differences between optical density in 570 and 600 nm of splenocyte proliferation without Con A treatment in birds fed basal diet.

a~b : Means with different superscript among in same treatment, and * : means between Non and LPS in a same diet differ significantly at $p < 0.05$, respectively.

사료급여시는 유의차가 없었다. 대조의 정상적인 육계병아리에서 14일령과 21일령에서 비장세포의 증식도는 크릴 밀 사료의 급여로 기초사료에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 증가하였으며, 크릴 밀 수준이 높아지면 비장세포의 증식도도 점차 높아졌다 ($p < 0.05$).

IV. 고찰

1. 혈중 TNF- α 활성

그램 음성 세균 유래의 LPS 주입은 TNF- α , IL-1, 및 IL-6 같은 친염증성 사이토카인을 분비하고 이들은 염증과 관련된 여러가지 증상을 일으키는 신호가 된다 (Givalois 등, 1994; Ottaway 등, 1998). TNF- α 는 패혈증이 발생했을 때 순환혈액에 나타나는 첫번째 사이토카인이며, 사람 (Ottaway 등, 1998)과 쥐 (Bone, 1991)에 LPS를 주입했을 때도 시간경과에 따라 혈액에서 TNF- α 수준이 상승했다가 내려가는 피크기가 있는 것이 관찰되었다. 본 연구에서 LPS 주입 후의 시간경과에 따른 혈중 TNF- α 활성의 변화가 측정되지는 않았으나, LPS 주입 후 24시간 뒤 (급성기 반응)와 1주일 뒤 (급성기 반응으로부터 회복)의 육계병아리에서 혈중 TNF- α 활성은 기초사료를 급여한 병아리에서는 LPS를 주입하지 않은 정상 병아리에 비해서 유의하게 증가하였다.

한편, 본 연구에서는 크릴 밀 사료를 급여한 육계병아리에서는 기초사료 급여시 급성기 반응으로 증가한 혈중 TNF- α 활성이 유의하게 감소하였다. 가금에서는 포유류에 비해서 그람 음성 세균의 내독소인 LPS에 비교적 저항성이 있다고 알려져 있다 (Roeder 등, 1989). 그러나 최근에는 LPS에 대한 가금의 염증 반응은 포유류와 비슷하다는 보고가 많이 발표되었다 (Klasing 및 Peng, 1987; Koh 등, 1996; Sunwoo 등, 1996; Xie 등 2000). 한편 Gehad 등 (2002)은 육계 병아리에서 본 연구와 동일한 실험 방법인 L929 세포의 세포독성을 측정한 혈중 TNF- α 활성이 LPS 주입 6시간 뒤부터 24시간까지 대조에 비하여 높아졌다고 하였다. 본 연구에서는 기초사료를 급여한 육계 병아리에서 LPS 주입 24시간 뒤와 1주일 뒤에 혈장 TNF- α 활성이 높아졌으며, 상기 연구 결과들과 유사하다고 생각되었다.

따라서 본 연구의 크릴 밀 사료 급여시의 TNF- α 활성의 감소는 사료에 함유된 크릴 밀의 성분이 그 원인이 되어 발생했다고 할 수 있을 것이다. 마우스에서 n-3 PUFA가 많이 함유되어 있는 어유의 급여는 LPS 급성기 반응시 비장세포로부터의 IL-1, IL-6 및 TNF- α 의 분비수준을 감소시켰다 (Jaya와 Chu, 1999). 어유를 섭취한 사람은 혈중 TNF- α 활성 및 TNF의 수용체인 TNF-R1과 TNF-R2의 발현수준이 감소하였다 (Pischon 등, 2003). 그리고 어유를 섭

취한 사람의 혈액내 단구세포를 배양했을 때 TNF- α 와 IL-6의 분비가 감소하였다(Treble 등, 2003). 본 연구에서 크릴 밀 사료 급여시 순환 TNF- α 의 감소 원인은 확실히 설명할 수 없었으나 크릴 밀에는 어유와 성분이 비슷한 지방산을 함유한다(고 등, 2004)는 연구결과와 Pischon 등(2003), Treble 등(2003) 그리고 Jaya와 Chu (1999)의 연구 성적을 참고로 하면 본 연구에서는 크릴 밀에 함유된 n-3 PUFA가 LPS 주입시의 혈액중 TNF- α 감소의 원인일 가능성을 배제할 수 없을 것이다.

2. 혈장 Ovotransferrin

Xie 등(2000)은 육계 병아리에 LPS를 주입하면 혈장내 단백질 중에서 219, 200, 65, 및 42 kDa 밴드의 단백질이 증가하나 49 및 56 kDa 밴드의 단백질은 반대로 감소하는 것을 관찰하였다. 급성기 반응시 증가된 단백질 65 kDa은 항-가금 오보트렌스웨린-항체를 이용하여 오보트렌스웨린임을 증명하고 급성기 단백질이라고 하였다(Xie 등, 2002). 본 연구에서도 항-가금오보트렌스웨린 항체를 이용하여 단백질 65 kDa 분획이 오보트렌스웨린임을 확인하였다.

본 연구에서 LPS를 주입한 육계 병아리에서 순환 오보트렌스웨린의 수준은 기초사료를 급여하면 증가하나 이에 비해서 크릴 밀 0.5, 1.0 및 2.0% 사료를 급여하면 감소하였다(Fig. 5). 이때 혈중 TNF- α (Fig. 4) 활성도 기초사료를 급여한 육계 병아리에서는 증가하였으나 크릴 밀 사료를 급여한 육계병아리에서는 기초사료 급여로 증가한 TNF- α 활성이 유의하게 감소하였다. 본 연구는 급성기 반응 중 및 회복기에 육계 병아리에 크릴 밀 사료 급여로 감소된 혈중 TNF- α 활성이 혈장 단백질들 중에서 자유기 생산 또는 항산화 작용과 관련이 있는 급성기 단백질(Xie 등, 2002)인 ovotransferrin의 수준 변화가 일치하고 있다는 것을 나타내었다.

3. PBMC와 비장세포 증식도

본 연구에서는 사료중 크릴 밀이 T 임파구의

증식 및 세포성 면역에 미치는 영향을 조사하기 위하여 선천 면역반응이 활성화한 육계병아리의 T 임파구의 증식을 자극(Cochet 등, 1997)하는 Con A 자극한 PBMC 또는 비장세포의 증식도를 조사하였다. 본 연구에서 급성기 반응중인 14일령 육계병아리의 PBMC 증식도는 크릴 밀 0.5% 사료급여로 가장 높았으나, 1.0 및 2.0% 크릴 밀 사료의 급여로 기초사료에 비해 유의하게 가장 낮았다($p < 0.05$). 14일령 비장세포의 증식도도 PBMC와 유사하게 급성기 반응시 크릴 밀 0.5% 사료 급여시 기초사료와 1.0 및 2.0% 사료에 비해 유의하게 높은 증식도를 보였으나, 크릴 밀 1.0과 2.0% 사료급여시 0.5% 사료와 기초사료에 비해 유의하게 낮아졌다.

Peterson 등(1998)는 사료중 낮은 수준(4.4g EPA+ DHA / 100 g total fatty acids: n-6 / n3 =7)의 n-3 PUFA 급여는 마이트젠에 대한 T 와 B 임파구의 증식효과를 높이나, 높은 수준(6.6g EPA+ DHA / 100 g total fatty acids: n-6 / n3 =7)의 n-3 PUFA를 급여하면 임파구들의 증식이 감소하는 것을 관찰 하였다. Calder (1996)는 마우스에 n-3 PUFA 급여시 Con A 및 PHA에 대한 임파구의 증식이 감소한다고 하였다. Schmidt 등(1991)도 사람의 어유 섭취는 T 임파구의 증식을 감소시킨다고 하였다. 그러나 Hinds와 Sanders (1993)의 연구에서 사료중 낮은 수준의 어유 첨가는 랫트에서 임파구의 증식을 높였다. 본 연구에서 급성기 반응중 PBMC와 비장세포 증식도가 크릴 밀 0.5% 사료급여로 증가하나 크릴 밀 1.0 및 2.0% 사료 급여시 감소하는 것은 크릴 밀중 함유된 n-3 지방산의 영향이라는 것을 시사한다.

4. 생산성

본 연구에서 급성기 반응은 크릴 밀 수준에 관계없이 간장($p=0.01$)과 비장($p=0.0005$)의 무게를 유의하게 증가시켰다. 이러한 성적은 본 연구실에서 LPS 주입에 의한 급성기 반응중인 육계 병아리에 크릴 밀 0.5와 1.0% 사료(임 등, 2003; 고 등, 2004) 그리고 크릴 밀 2.0% (박

등, 2004) 사료급여로 대조에 비해 간장과 비장 무게가 증가하였던 것과 유사하다. Koutsos 등 (2006)은 육계 병아리에 LPS 주입에 의해서 면역반응의 활성화로 비장내 면역세포 증식의 증가는 비장무게를 증가시킨다고 하였다. 급성기 반응시 면역세포가 분비하는 IL-1과 IL-6 등 친염증성 사이토카인들은 간장에서 급성기 단백질 합성을 증가시키는 신호가 되고 급성기 단백질 합성의 증가가 간장무게를 증가시킨다는 보고가 있다(Gaby와 Kushner, 1999; Kushner와 Rzewnicki, 1999; Suffredini, 1999). 한편 본 연구에서 급성기 반응중인 육계 병아리의 간장과 비장무게 증가가 대조구에 비해서 크릴 밀 0.5% 급여시는 유의하지 않으나 크릴 밀 1.0 및 2.0% 사료에서는 유의한 것은 크릴 밀 0.5% 사료급여시 급성기 반응의 완화를 나타내는지 도 모른다

육계병아리에 LPS 주입 또는 살모넬라 감염으로 발생한 급성기 반응은 육계의 사료섭취, 일당 증체 및 사료효율을 감소시킨다(Korver와 Klasing, 1997; Roura 등, 1992). 육계병아리에 크릴 밀 0.5 및 1.0% 사료를 급여하였을 때(고 등, 2004) 그리고 크릴 밀 2.0% 사료를 급여했을 때(박 등, 2004) LPS에 의한 급성기 반응은 육계에서 일당 증체, 사료섭취 및 사료효율이 유의하게 감소하는 것을 관찰하였다. 본 연구에서도 급성기 반응은 정상적인 대조병아리에 비해 사료중 크릴 밀 수준에 관계없이 증체와 사료섭취를 유의하게 감소시키고, 사료효율은 낮아지는 경향을 보였다. 박 등(2004)도 크릴 밀 2.0% 함유된 사료를 급여하였을 때 LPS 주입에 의한 급성기 반응으로 생산성이 감소하였으며 본 연구의 크릴 밀 2.0% 사료 급여시에도 생산성이 감소하여 유사한 결과라고 판단되었다. 본 연구성적은 상기 Korver와 Klasing (1997), Roura 등(1992) 그리고, 고 등(2004), 임 등(2003) 및 박 등(2004)의 연구 성적과 유사하였다.

Mulrooney와 Gimble(1993)은 랫트에 재조합 TNF- α 를 정맥 주입한 24시간 뒤 사료섭취가 62% 감소하여 사료섭취의 감소는 TNF- α 에 의한 것이라 하였다. 본 연구에서 급성기 반응중

인 육계병아리에 기초사료를 급여했을 때 TNF- α 활성이 증가하고 사료섭취량이 감소하였다. Klasing과 Korver(1997)은 가금의 단구세포(monocyte)를 배양하여 상등액에서 분리한 IL-1과 같은 작용을 하는 단백질은 가금에 주입하면 골격근 조직의 단백질 분해가 증가하고, 성장이 감소한다고 하였다. 한편 임 등(2003)은 LPS 주입에 의한 급성기 반응시 노산 배설량이 증가하고 단백질 축적량이 감소하는 것을 관찰하였다. 본 연구에서 일당 증체의 감소는 단구세포나 대식세포의 활성화시 사이토카인 분비 등에 의한 단백질 분해가 원인이라고 추정할 수 있다. Korver와 Klasing (1997)은 급성기 반응시 간장에서의 급성기 단백질의 합성증가는 동물체의 항상성 유지에 중요하나, 영양소가 우선적으로 급성기 단백질 합성에 이용되므로 동물의 생산성을 감소시키는 원인이 된다고 하였다.

그러나 본 연구에서 크릴 밀 사료를 급여했을 때는 선천 면역이 활성화 되었을 때 TNF- α 활성이 감소했으나(Fig. 4), 사료섭취량도 감소하였다(Fig. 1). 급성기 반응시 사료에 n-3 PUFA의 첨가로 이러한 생산성 감소가 완화된다고 하였다(Korver와 Klasing, 1997). 본 연구실에서도 LPS에 의한 급성기 반응시 육계사료중 어유의 급여로 LPS 급성기 반응중 사료섭취, 일당증체 및 사료효율 감소가 완화되는 것을 관찰하였다(고 등, 2001). 그러나 본 연구에서 크릴 밀 사료의 급여로 급성기 반응시 감소되는 일당 증체, 사료 섭취가 완화되지 않은 것은 크릴밀 중 어유 이외의 다른 성분이 증체와 사료섭취에 영향을 미치고 있다는 것을 시사하고 있다.

대조구의 정상 육계병아리에서는 크릴 밀사료의 급여는 기초사료에 비해 일당 증체와 사료효율을 증가시켜, 크릴 밀 0.5% 사료급여로 가장 높아지는 경향을 보였다. 본 연구에 사용한 각 실험사료의 에너지 함량 및 일반성분은 차이가 없었으므로 사료중 크릴 밀 첨가는 정상병아리에서 일당 증체에 영향이 미치고 있다고 생각되었다.

본 연구에서 급성기 반응중인 육계 병아리의 생산성과 면역반응에 미치는 사료중 크릴 밀

수준의 영향이 조사되었다. 육계병아리에서 사료중 크릴 밀은 LPS의 복강내 주입에 의한 급성기 반응시 혈중 TNF- α 활성과 오보트렌스웨린 수준을 감소시켰다. 그러나 크릴 밀의 급여가 급성기 반응시 성장율과 사료섭취량에는 영향을 미치지 않았다. 급성기 반응중에 순환오보트렌스웨린 수준은 기초사료에 비해서 크릴 밀 사료 급여로 감소 하였다. 급성기 반응중 PBMC와 비장 세포 증식도는 크릴 밀 0.5% 사료급여에 비해서 크릴 밀 1.0 및 2.0% 사료 급여시에는 감소하였다. 정상병아리에서는 크릴 밀 수준에 따라 비장세포의 증식도가 점차 증가 하였다. 본 연구 성적은 급성기 반응중인 육계 병아리에서 사료중 크릴 밀 첨가가 혈중 TNF- α 활성과 ovotransferrin 분비를 감소시키고 PBMC와 비장세포 증식도에 미치는 영향은, 사료중 크릴 밀이 육계 병아리의 선천 면역성 및 세포 면역성과 관계가 있다는 것을 나타내었다.

V. 요약

급성기 반응중 육계병아리의 생산성과 면역 반응에 미치는 사료중 크릴 밀 수준의 영향이 조사되었다. 갓 부화한 육계병아리 (Ross) 수컷을 크릴 밀 0.0(기초), 0.5, 1.0 및 2.0% 함유한 실험사료로 3주간 실험사육하고 9, 11 및 13일령에 *Salmonella typhimurium* LPS를 복강내 주입하여 급성기 반응을 활성화하였다.

1. 급성기 반응은 유의하게 ($p < 0.05$) 일당증체와 사료섭취량을 감소시키고, 간장과 비장의 무게를 증가시키나 사료중 크릴 밀 수준에 의한 영향은 유의하지 않았다.

2. 크릴 밀 사료급여는 TNF- α 활성을 급성기 반응과 회복중에도 기초사료에 비해 낮추었다 ($p < 0.05$). 급성기 반응은 TNF- α 활성을 대조에 비해서 기초사료 급여로 유의하게 증가시키나 ($p < 0.05$), 크릴 밀 사료급여시는 유의하지 않았다.

3. 급성기 반응은 혈중 오보트렌스웨린 수준을 대조에 비해서 기초사료, 크릴 밀 1.0 및 2.0% 사료급여로 증가시키나 크릴 밀 0.5% 사료급여로 감소시켰다.

4. 급성기 반응중 PBMC 및 비장세포의 증식

도는 크릴 밀 0.5% 사료급여로 차이가 없었으나, 크릴 밀 1.0 및 2.0% 사료급여시에는 오히려 감소하였다($p < 0.05$). 대조인 정상병아리에서는 크릴 밀 수준에 따라 비장세포의 증식도가 점차 증가하였다.

본 연구 성적은 급성기 반응중인 육계병아리에서 사료중 크릴 밀 첨가가 혈중 TNF- α 활성과 ovotransferrin 분비를 감소시키고 PBMC와 비장세포 증식도에 미치는 영향은, 사료중 크릴 밀이 육계 병아리의 선천 면역성과 세포성 면역성과 관계가 있다는 것을 나타내었다.

(색인 단어 : lipopolisaccharide (LPS), tumor necrosis factor- α (TNF- α), PBMC와 비장세포의 증식, 크릴 밀, 육계 병아리)

VI. 인용 문헌

1. Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pober, J. S. 2000. Cellular and molecular immunology. 4th ed. WB Saunders, Philadelphia, USA.
2. Berczi, I. 1998. Neurohormonal host defenses in endotoxin shock. Ann. NY. Acad. Sci. USA 30: 411-415.
3. Beutler, B., Mahoney, J., Le Trang, N., Pekala, P. and Cerami, A. 1985. Purification of cachetin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. J. Exp. Med. 161:984-995.
4. Bone, R. C. 1991. The pathogenesis of sepsis. Ann. Intern. Med. 115:457-469.
5. Calder, P. C. 1996. immunomodulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. Proc. Nutr. Soc. 55:737-774.
6. Chaby, R. 1999. Strategies for the control of LPS-mediated pathophysiological disorders. DDT 4:209-221.
7. Cochet, O., Teillaud, J. L. and Sautes, C. 1998. Immunological techniques made easy. Wiley co, UK, pp.: 7.
8. Cripps, G. and Atkinson, A. 1999. The fatty acid signature of carnivorous Antarctic krill, Euphausia superba. Proceedings, The second international symposium of krill, 23-27. August 1999, University of California Santa Cruz.
9. Dinarello, C. A., Cannon, J. G., Wolff, S. M., Bernheim, H. A., Beutler, B., Cerami, A., Figari,

- I. S., Palladino, Jr. M. A. and O'Connor, J. V. 1986. Tumor necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin 1. *J. Exp. Med.* 163:1433-1450.
10. Edelman, A. S., Sanchez, P. L., Robinson, M. E., Hochwald, G. M. and Thorbecke, G. J. 1985. Primary and secondary wattle swelling response to phytohemagglutinin as a measure of immunocompetence in chickens. *Avian Dis.* 30:105-111.
 11. Erf, G. F. 2004. Cell-mediated immunity in poultry. *Poult. Sci.* 83:580-590.
 12. Flick, D. A. and Gifford, G. E. 1984. Comparison of *In vitro* cell cytotoxic assays for tumor necrosis factor. *J. Immuno. Meth.* 68:167-175.
 13. Gaby, C. and Kushner, I. 1999. Acute phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.* 340:448-454.
 14. Gehad, A. E., Lillehoj, H. S., Hendricks, G. L. and Mashaly, M. M. 2002. Initiation of humoral immunity. I. The role of cytokines and hormones in the initiation of humoral immunity using T-independent and T-dependant antigens. *Develop. and Comp. Immunol.* 26:751-759.
 15. Givalois, L., Dormand, J., Mekaouche, M., Solier, M. D., Bristow, A. F., Ixart, G., Siaud, P., Assenmacher, I. and Barbanel, G. 1994. Temporal cascade of plasma level surges in ACTH, corticosterone, and cytokines in endotoxin-challenged rats. *Am. J. Physiol.* 267: R164-170.
 16. Grantham, G. J. 1977. The utilization of krill. Southern ocean fisheries survey programme, Rome, FAO, GLO/SO/77/3:61.
 17. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. Third edition. Oxford University Press, New York.
 18. Hinds, A. and Sanders, T. A. 1993. The effect of increasing levels of dietary fish oil rich in EPA and DHA on lymphocyte phospholipid fatty acid composition and cell-mediated immunity in the mouse. *Br. J. Nutr.* 69:423-429.
 19. Jaya, T. V. and Wei-chia Chu. 1999. Effects of dietary 3 and 6 lipids and vitamin E on proliferative response, lymphoid cell subsets, production of cytokines by spleen cells, and splenic protein levels for cytokines and oncogenes in MRL/MpJ-*lpr/lpr* mice. *J. Nutr. Biochem.* 10: 582-597.
 20. Klasing, K. C. and Peng, R. K. 1987. Influence of cell source, stimulating agents, and incubation conditions on release of interleukin-1 from chicken macrophage. *Dev. Comp. Immunol.* 11:385-394.
 21. Klasing, K. C. 1994. Avian leukocytic cytokines. *Poult. Sci.* 73:1035-1043.
 22. Klasing, K. C. and Korver, D. R. 1997. Leukocytic cytokines regulate growth rate and composition following activation of the immune system. *J. Anim. Sci.(suppl. 2)* 75:58-67.
 23. Klasing, K. C. 1998. Nutritional modulation of resistance to infectious disease. *Poult. Sci.*, 77: 1119-1125.
 24. Koh, T. S., Peng, R. K. and Klasing, K. C. 1996. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. *Poult. Sci.* 75:867-872.
 25. Korver, D. R. and Klasing, K. C. 1997. Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune response. *J. Nutr.* 2039-2046.
 26. Koutsos, E. A., Garcia Lopez, J. C. and Klasing, K. C. 2006. Carotenoids from in ovo or dietary sources blunt systemic indices of the inflammatory response in growing chicks. *J. Nutr.* 136:1027-1031.
 27. Kushner, I. and Rzewnicki, D. 1999. *Acute Phase response. Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. Lippincot-Williams & Wilkins, Philadelphia, USA pp.: 317-330.
 28. Leshchinsky, T. V. and Klasing, K. C. 2001. Divergence of the inflammatory response in two types of chickens. *Develop. and Comp. Immunol.* 25:629-638.
 29. Manzo, E., Molinaro, A., Bedini, E., De Castro, C. and Parrilli, M. 2001. A very efficient method to cleave lipid A and saccharide components in bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydrate research* 333: 339-342.
 30. McCord, J. M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244:6049-6055.
 31. Mulrooney, H. M. and Gimble, R. F. 1993. Influence of butter and of corn, coconut and fish oils on the effect of recombinant human tumor necrosis factor-alpha in rats. *Clin. Sci.* 84:105-112.
 32. Okusawa, S., Gelfand, J. A., Ikejima, T., Connolly, R. J. and Dinarello, C. A. 1998. Interleukin-1 induces a shock-like state in rabbits: synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J. Clin. Investig.* 81:1662-1672.
 33. Ottaway, C. A., Fong, I. W., da Silva, B., Singer,

- W. and Karrass, L. 1998. Integrative aspects of a human model of endotoxemia. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 76:473-478.
34. Perlstein, R. S., Whitnall, M. H., Abrams, J. S., Mougey, E. H. and Neta, R. 1993. Synergistic roles of IL-6, IL-1, and TNF in adrenocorticotropin response to bacterial Lipopolysaccharide *in vivo*. *Endocrinology* 132:946-952.
35. Peterson, L. D., Thies, F., Sanderson, P., Newsholme, E. A. and Calder, P. C. 1998. Low levels of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids mimic the effects of fish oil upon rat lymphocytes. *Life Sciences* 62(24):2209-2217.
36. Pischon, T., Hankinson, S. E., Hotamisligil, G. S., Rifai, N., Willett, W. C. and Rimm, E. B. 2003. Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among US men and women. *Circulation* 108:155-160.
37. Rietschel, E. T., Schletter, J., Weidemann, B., El-Samalouti, V., Mattern, T., Znhringer, U., Seydel, U., Brade, H., Flad, H. D., Kusumoto, S., Gupta, D., Dziarski, R. and Ulmer, A. J. 1998. Lipopolysaccharide and peptidoglycan: CD14-dependent bacterial inducers of inflammation. *Microb. Drug Resist.* 4:37-44.
38. Roeder, D. J., Lei, M. G. and Morrison, D. C. 1989. Endotoxic-lipopolysaccharide-specific binding proteins on lymphoid cells of various animal species: association with endotoxin susceptibility. *Infect. Immun.* 57:1054-1058.
39. Roura, E., Homedes, J. and Klasing, K. C. 1992. Prevention of immunologic stress contributes to the growth-permitting ability of dietary antibiotics in chicks. *J. Nutr.* 122:2383-2390.
40. SAS Institute Inc. 1988. SAS user's Guide, statistics version 5 ed. SAS Institute Inc., NC, USA.
41. Schmidt, F. B., Pedersen, J. O., Varming, K., Ernst, E., Jersild, C., Grunnet, N. and Dyerberg, J. 1991. n-3 fatty acids and leukocyte chemotaxis. Effects in hyperlipidemia and dose-response studies in healthy men. *Arteriosclerosis Thrombosis*, 11: 429-435.
42. Suffredini, A. F., Fantuzzi, G., Badolato, R., Oppenheim, J. J. and O'Grady, N. P. 1999. New insights into the biology of the acute phase response. *J. Clin. Immunol.* 19:203-214.
43. Sunwoo, H. H., Nakano, T., Dixon, W. T. and Sim, J. S. 1996. Immune responses in chicken against lipopolysaccharide of *Escherichia coli* and *Salmonella thymurium*. *Poult. Sci.* 75:342-345.
44. Tracey, K. J., Morgello, S., Koplun, B., Fahey, T. J., Fox, J., Aledo, A., Manogue, K. R. and Cerami, A. 1990. Metabolic effects of cachectin/tumor necrosis factor are modified by site of production. Cachectin/tumor necrosis factor-secreting tumor in skeletal muscle induces chronic cachexia, while implantation in brain induces predominantly acute anorexia. *J. Clin. Investig.* 86:2014-2024.
45. Trebble, T., Arden, N. K., Stroud, M. A., Wootton, S. A., Burdge, G. C. and Miles, E. A. 2003. Inhibition of tumour necrosis factor- α and interleukin-6 production by mononuclear cells following dietary fish oil supplementation in healthy men and response to antioxidant co-supplementation. *Br. J. Nutr.* 90: 405-412.
46. Xie, H., Rath, N.C., Huff, G. R., Balog, J. M. and Huff, W. E. 2000. Effects of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide on broiler chickens. *Poult. Sci.* 79: 33-40.
47. Xie H., Newberry, L., Clark, F. D., Huff, W. E., Huff, G. R., Balog, J. M. and Rath, N. C. 2002. Change in serum ovotransferrin levels in chickens with experimentally induced inflammation and disease. *Avian disease*, 46:122-131.
48. Zhao, W., Han, Y., Zhao, B., Hirota, S., Hou, J. and Xin, W. 1998. Effect of carotenoids on the respiratory burst of rat peritoneal macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1381:77-88.
49. 고태송, 구의섭, 임진택, 이성일. 2001. 브로일러의 면역스트레스시 오징어 간유의 면역조정 능력에 관한 연구. 건국대학교 동물자원연구센터 학술지 22:59-69.
50. 고태송, 임진택, 박인경, 김재환. 2004. 급성기 반응중인 육계병아리의 생산성에 미치는 사료중 크릴밀의 영향. 동물자원과학회지, 46:173-182.
51. 박인경, 김재환, 임진택, 고태송. 2004. 사료중 크릴밀을 급여한 육계의 생산성과 SOD 활성에 미치는 급성기 반응의 영향. 동물자원과학회지. 46:183-192.
52. 임진택, 김재환, 박인경, 고태송. 2003. 살모넬라 LPS를 주입한 육계병아리의 생산성과 질소밸런스 및 대사에너지 이용성에 미치는 사료중 크릴밀의 영향. 동물자원과학회지. 45:957-966.
53. 임진택, 박인경, 고태송. 2007. Alamar blue 색소의 환원량 평가에 의한 급성기 반응중 육계병아리의 비장세포와 PBMC 증식도 측정. 동물자원과학회지 49(2):213-224.

(접수일자 : 2006. 12. 13. / 채택일자 : 2007. 4. 23.)