大韓獸醫學會誌(2010) 第50卷 第3號
Korean J Vet Res(2010) 50(3) : 179~185

<원 저>

한우와 젖소 신생 송아지의 말초혈액 림프구아군 특성비교

정영훈[1] · 허태영[1,*] · 강석진[1] · 기광석[1] · 박성재[1] · 이명식[1] · 서국현[2]

[1]농촌진흥청 국립축산과학원, [2]전남대학교 수의과대학

(게재승인: 2010년 8월 4일)

Evaluation of character on lymphocyte subpopulations from peripheral blood in Hanwoo and Holstein neonatal calves

Young-Hun Jung[1], Tai-Young Hur[1]*, Seog-Jin Kang[1], Kwang-Seok Ki[1], Sung-Jae Park[1], Myeung-Sik Lee[1], Guk-hyun Suh[2]

[1]*National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Cheonan 330-801, Korea*
[2]*College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea*

(Accepted: August 4, 2010)

Abstract : The present study was undertaken to establish reference values for the composition blood lymphocyte populations and compare forty three Hanwoo neonatal calves (KC) with twenty one Holstein calves (HC) by blood cell count and immunophynotying. The percentages of CD2+, CD4+, CD8+, CD26+, ACT2+, MHC class, MHC class II and WC1+ T cells, B cells were determined by flow cytometry. The number of lymphocyte and monocyte in HC were higher than those of KC. However, the number of neutrophils was higher in HC than KC. The proportions of CD2+, CD4+, CD8+, MHC class, and WC1+ lymphocytes remained relatively stable during the study period, while there was a moderate increase in the relative percentage of CD26+, ACT2+, MHC class II and B cell from birth to approximately 3 weeks of age. Marked differences in the relative proportions of the lymphocyte subpopulations were noted between the individual calves. The present study shows that the T-cell subpopulations are present in peripheral blood of KC at levels comparable with HC, while the MHC class II and B cell population of KC increases significantly with age. The absolute number of WBC in KC was due to the decrease of absolute number of neutrophil rather than the increase of lymphocyte. The results indicated that KC have significantly higher number of neutrophils, and proportion of MHC class II and B cell than HC.

Keywords : flow cytometry, Hanwoo and Holstein calf, immunophynotype, lymphocyte subpopulation

서 론

신생송아지는 사람과 태반 구조가 달라 모체로부터 면역물질을 전달 받지 못한 상태(gammaglobulinaemic)로 태어나기 때문에 외부 병원체나 질병에 대한 감수성이 높아 신생송아지의 질병발생율과 폐사율이 성우에 비해 매우 높으며, 특히 젖소보다 한우의 질병발생율과 폐사율이 더 높다 [1, 2, 23]. 따라서 신생송아지가 전염병에 저항하기 위해서는 선천면역기전과 모유항체에 의해 보호받게 되며 이러한 수동면역은 분만 초기 가능한 빨리 초유를 최대한 섭취하는 것이 중요하다 [23].

선천면역시스템의 세포는 단핵/대식세포, 과립세포와 자연살해세포(NK)로 이루어져 있으며, 외부 병원체를 인식하고 파괴하는 것이 이 세포집단의 특징이다 [24]. 호중 과립구는 세균감염에 매우 중요한 역할인 탐식작용과 respiratory burst activity과정을 통해 침입한 세균을 제거한다 [14]. 선천면역과 획득면역 중간에서 중요한 역할을 하는 NK 세포 분포는 신생송아지에서 높으나

*Corresponding author: Tai-Young Hur
National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Cheonan 330-801, Korea
[Tel: +82-41-580-3406, Fax: +82-41-580-3429, E-mail: tyohur@korea.kr]

성장과 더불어 감소하며, T세포 아군은 송아지보다 신생송아지에서 높은 것으로 조사되었다 [16, 25].

동물의 임파구는 크게 T, B, N 3종류로 구성되며 T임파구는 CD2, CD5, CD6의 표면특이항원을 공통으로 가지고 있으며 CD4나 CD8을 선택적으로 가지고 있다. B임파구는 표면에 면역글로불린과 B임파구 특유의 표면항원(CD19, CD20, CD21 등)으로 구분한다. N임파구는 d T cell receptor(TCR1; WC1)와 CD3, CD5 표면항원을 가지고 있다 [24].

신생송아지 혈액내 면역세포의 탐식능력은 떨어지지만 다른 기전과 높은 수치의 말초혈액 다형핵호중구(PMNL)에 의해 보상되며, 또한 영양상태 및 질병의 감염상태에 따라 혈액중 면역세포 변화가 관찰된다고 하였다 [17, 19]. 또한 여러 연구자들이 성우와 어린송아지의 말초혈액내 림프아군의 비율을 조사 보고한 결과 송아지의 WC1 세포의 비율이 높다고 하였다 [10, 24, 26]. 그러나 국내에서는 한우 성우 말초혈액내 백혈구아군별 분포 [4]와 한우 및 한우송아지의 혈구 및 생화학성분에 대한 조사 [3, 5, 6]는 이루어져 왔으나 한우 신생송아지의 말초혈액 임파구 아분포 특성뿐만 아니라 젖소 신생송아지의 림프구 아분포 특성과 비교한 자료는 찾아 볼 수 없다.

따라서 본 연구는 한우 신생송아지의 면역획득능력 구명을 위하여 분만 직후에서 3주령까지 한우 및 젖소 신생송아지의 주요 면역세포와 혈구세포에 대하여 비교분석을 하였다.

재료 및 방법

공시축 및 샘플채취

본 시험에 공시된 신생송아지는 국립축산과학원 한우시험장과 낙농과에서 2006년 3월부터 5월까지 생산된 한우송아지 41두와 젖소 송아지 23두로 각각 한국표준사양법과 국립축산과학원 관행에 따라 사육하였다. 모든 송아지는 태어난 직후 초유를 충분히 급여하였고 질병이 있는 개체는 치료 후 완치기간까지 본 조사에서 제외하였다. 젖소 송아지는 3일간 초유를 급여한 후 이유전까지 전유와 사료를 급여하였다. 말초혈액내 백혈구 아군 분포를 조사하기 위한 시료 채취는 한우 및 젖소 신생송아지 초유 섭취전(0), 1, 5, 7, 14, 21일령에 각각 경정맥에서 채취하였다. 혈구검사는 채혈 후 2시간 이내 전자동혈구분석기(Hema-Vet 850; ODC Tec, USA)로 백혈구(WBC), 호중구(NE), 림프구(LY), 호염구(BA), 호산구(EO)에 대하여 검사하였다.

림프구 아집단 표현형검사

EDTA가 있는 전혈 100 μL을 5 mL 튜브에 넣고 여러 가지 소 백혈구 표면분자에 대한 MoAb(Table 1) 50 μL (최종 농도 5 μg/mL)을 넣은 후 15분 동안 실온에서 반응시켰다. 반응시킨 튜브에 PBS(FACSFlow; Becton Dickinson Biosciences, USA) 2 mL를 튜브에 넣고 두 번 세척하였다. 원심분리기에 넣고 냉장상태에서 5분동안 원심분리후 상층액은 버렸다. 2차 anti-mouse isotype-specific antibodies labelled with FITC, PE(Southern Biotech, USA), or APC(Pharmingen, USA)를 각각 최종농도 5, 1.25 and 0.5 μg/mL를 첨가한 후 15분 동안 실온에서 반응시켰다. FACSLyse(Becton Dickinson Biosciences, USA)를 추가하여 적혈구는 용해한 후 백혈구를 고정하였다. 샘플은 488 nm argon laser와 635 nm red diode laser가 장착된 FACScanto flow cytometer(Becton Dickinson Biosciences, USA)로 각 세포의 forward, side scatter light signals과 logarithmic amplification of the fluorescence signals을 조사하였다. Flow cytometer는 Calibrite beads (Beckton Dickinson Biosciences, USA)로 매주 calibration

Table 1. Monoclonal antibodies specific to bovine leukocyte differentiation molecules used to define the composion of leukocyte subpopulations from peripheral blood

Molecules*	MoAbs†	Isotype of MoAbs	Cell type‡
MHC class I	H58A	IgG1	All nucleated cell
MHC class II	H42A	IgG1	Antigen presenting cell
BoCD2	BAQ95A	IgG1	T cell
BoCD4	CACT138A	IgG1	T helper, inducer cell
BoCD8	BAQ80C	IgG1	T cytotoxic, suppressor cell
CD26	CACT114A	IgG1	N cell and activated BoCD4
ACT2	CACT26A	IgG1	N cell and activated BoCD8
WC1	BAQ4A9	IgG1	Non T/B cell
B cell	PIG45A	IgG2b	B cell

*Molecules = bovine leukocyte differentiation molecules. †MoAbs = monoclonal antibodies which specifically react with leukocyte differentiation antigen. ‡Cell type = cells expressing molecules.

Table 2. Hematological results of Hanwoo calves and Holstein calves

Group (No. of head)	Age (days)	Parameters*				
		WBC	Neutrophils	Lymphocytes	Monocyte	Eosinophil
Holstein (21)	0	$9.61^{ab} \pm 2.83$	$3.54^{*ab} \pm 1.77$	$4.45^{*dc} \pm 1.34$	$1.58^{*abc} \pm 0.75$	$0.04^{*b} \pm 0.02$
	1	$8.30^{b} \pm 3.94$	$2.34^{*c} \pm 1.74$	$4.24^{*d} \pm 1.82$	$1.67^{*ab} \pm 0.87$	$0.04^{*b} \pm 0.04$
	5	$9.89^{*ab} \pm 2.46$	$2.39^{*c} \pm 1.24$	$5.85^{*a} \pm 1.41$	$1.60^{*abc} \pm 0.55$	$0.05^{*ab} \pm 0.03$
	7	$10.21^{*a} \pm 2.41$	$2.63^{*bc} \pm 1.19$	$5.67^{*ab} \pm 1.36$	$1.86^{*a} \pm 0.67$	$0.05^{*ab} \pm 0.04$
	14	$10.43^{*a} \pm 2.54$	$3.66^{a} \pm 1.77$	$5.36^{*abc} \pm 1.52$	$1.34^{*bc} \pm 0.79$	$0.07^{*a} \pm 0.04$
	21	$10.57^{*a} \pm 2.11$	$3.68^{a} \pm 1.67$	$5.64^{*ab} \pm 1.27$	$1.18^{*c} \pm 0.58$	$0.06^{*ab} \pm 0.05$
Hanwoo (43)	0	$10.51^{a} \pm 3.03$	$7.36^{*a} \pm 2.64$	$2.61^{*b} \pm 1.42$	$0.25^{*b} \pm 0.23$	$0.29^{*a} \pm 0.29$
	1	$9.89^{a} \pm 3.14$	$7.05^{*a} \pm 2.75$	$2.28^{*bc} \pm 1.05$	$0.40^{*a} \pm 0.45$	$0.16^{*b} \pm 0.15$
	5	$7.98^{*b} \pm 2.74$	$5.30^{*b} \pm 2.31$	$2.06^{*c} \pm 0.93$	$0.38^{*a} \pm 0.25$	$0.23^{*ab} \pm 0.25$
	7	$8.25^{*b} \pm 2.33$	$4.93^{*bc} \pm 1.64$	$2.68^{*b} \pm 0.93$	$0.34^{*abc} \pm 0.17$	$0.29^{*a} \pm 0.24$
	14	$7.93^{*b} \pm 2.68$	$4.27^{c} \pm 2.14$	$3.15^{*a} \pm 1.03$	$0.32^{*abc} \pm 0.15$	$0.18^{*b} \pm 0.17$
	21	$8.37^{*b} \pm 2.97$	$4.34^{c} \pm 2.01$	$3.50^{*a} \pm 1.47$	$0.33^{*abc} \pm 0.16$	$0.19^{*b} \pm 0.15$

*Parameters revealed a significance for the animal group ($p < 0.01$). WBC: white blood cell ($\times 10^3$ cells/μL), neutrophil ($\times 10^3$ cells/μL), lymphocyte ($\times 10^3$ cells/μL), monocyte ($\times 10^3$ cell/μL), eosinophil ($\times 10^3$ cells/μL). RBC: red blood cell, MCV: mean cell volume, MCHC: mean cell hemoglobin concentration, PLT: platelet. [a,b,c,d]Significant difference between the ages of the same group ($p < 0.05$).

을 하였다. 총 10,000개 이상의 세포를 판독하여 FACS Diva software(Becton Dickinson Biosciences, USA)를 이용 분석 · 검사하여 양성반응 세포수를 측정하였다. 일령에 따른 유의성 검정은 GLM으로 실시, 품종별 유의성은 duncan 다중검정법으로 실시하였다.

결 과

신생한우 및 젖소 송아지의 혈액학치 비교

신생한우 및 젖소 송아지의 백혈구, 호중구, 림프구, 호산구 및 호염구 수치는 Table 2와 같다. 말초 혈액내 백혈구 수치는 생후 5일령 이후부터 젖소송아지가 한우송아지보다 유의성($p < 0.01$)있게 높았다. 한우송아지의 백혈구수는 출생 직후와 1일령이 다른 일령에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 높았고 21일령까지 유의성있게 감소하였다. 말초 혈액내 호중구 수치는 초유 섭취 전부터 생후 7일령까지 한우가 젖소보다 높았으나, 생후 14일령 이후부터는 젖소와 한우송아지에서 비슷한 경향치를 나타났다. 한우송아지의 호중구 수치는 출생 직후와 1일령이 다른 일령보다 유의성($p < 0.05$)있게 높았으나 일령 증가에 따라 유의성있게 감소하였다. 젖소송아지의 경우 생후 1일령부터 유의성($p < 0.05$)있게 감소한 후 서서히 증가하였다.

젖소송아지 혈액내 림프구의 비율은 초유 섭취 전부터 생후 21일령까지 한우송아지보다 유의성($p < 0.01$)있게 높았다. 단핵구 수치와 비율은 젖소송아지가 한우송아지보다 초유 섭취 전부터 생후 21일령까지 유의성($p < 0.01$)있게 높았다. 그러나 일령이 증가함에 따라 단핵구 수치는 젖소송아지와 한우송아지에서 감소하였다. 호산구 수치와 비율은 초유 섭취 전부터 21일령까지 한우송아지가 젖소송아지보다 유의성($p < 0.01$)있게 높았다.

신생한우 및 젖소 송아지의 림프구 아분포 비교

말초 혈액내 평균 CD2 세포 비율은 젖소의 경우 38% 전후, 한우는 35% 전후로 안정적으로 나타났다(Fig. 1A). 초유 섭취전 한우 신생송아지보다 젖소 신생송아지에서 전반적으로 높았다. 초유 섭취전 한우 신생송아지의 CD2+ 세포 비율은 다른 일령보다 유의성($p < 0.05$)있게 높았으나, 14일령과 21일령에는 차이를 나타내지 않았다. 평균 CD4+ 세포 비율은 젖소송아지가 한우송아지보다 14일과 21일령에 유의성($p < 0.05$)있게 높았으나, 다른 일령에서는 CD4 발현세포의 비율이 비슷하였다. 한우송아지의 CD4 발현세포 비율은 일령에 따른 차이는 없었으나, 젖소송아지의 경우 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였다(Fig. 1B). 평균 CD8+ 세포 비율은 젖소 신생송아지가 한우 신생송아지보다 초유 섭취전 유의성($p < 0.05$)있게 높았으나, 1일령부터 젖소송아지와 한우송아지에서 유사한 경향을 나타내었다. 일령별 CD8 발현세포 비율은 한우송아지와 젖소송아지 모두 출생 직후에는 높았으나 점차 유의성($p < 0.05$)있게 감소하였다(Fig. 1C).

일령별 평균 CD26+ 세포 비율은 출생초기 5%내외에서 21일령에 8%로 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였으나,

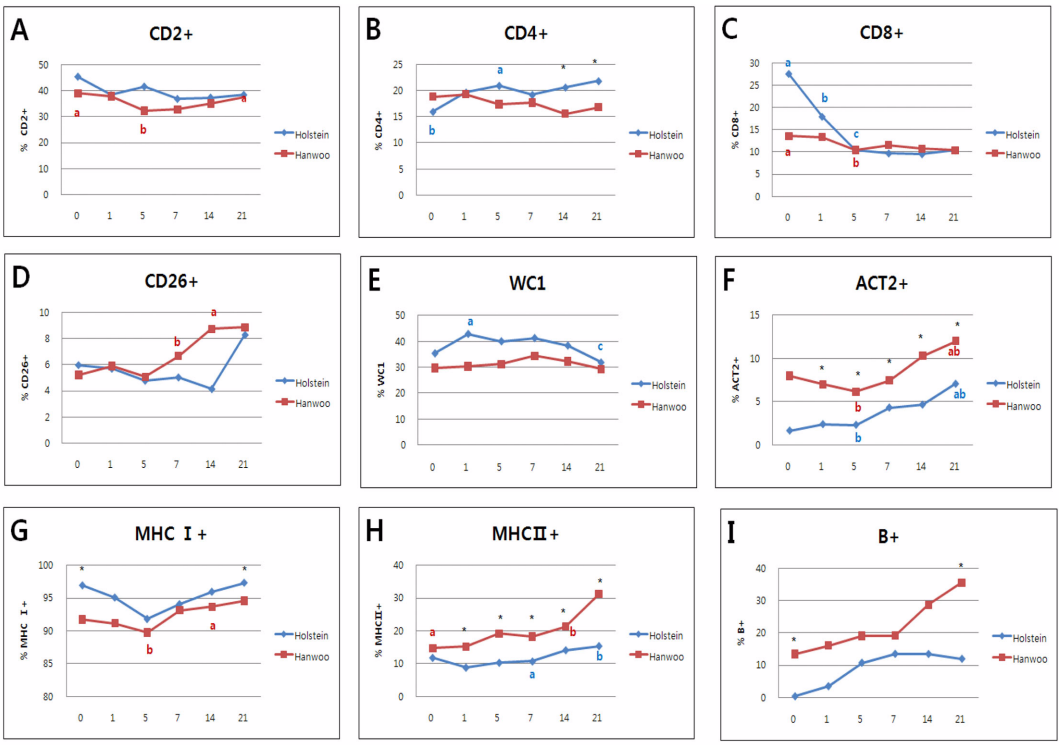

Fig. 1. Comparison of distribution of lymphocyte subset in Hanwoo calves and Holstein calves. Parameters revealed a significance for the animal group. [a,b,c,d]Significant difference between the ages of the same group ($p < 0.05$).

젖소송아지와 한우송아지에서 모두 유사한 경향을 나타내었다(Fig. 1D). d T 세포수용체(TCR1; WC1) 발현세포 비율은 젖소송아지와 한우송아지에서 모두 유사한 경향을 나타내었다(Fig. 1E). 활성화된 모든 N세포와 CD8 아군에 존재하는 ACT2+ 세포 비율은 초유 섭취전을 제외하고 대부분의 일령에서 한우송아지가 젖소송아지보다 유의성($p < 0.05$)있게 높게 나타났다. 젖소송아지는 출생 직후 낮았으나 점차 증가하여 21일령 이후부터 유의성($p < 0.05$)있게 차이를 나타내었고, 한우송아지의 ACT2 발현세포 비율도 일령증가에 따라 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였다(Fig. 1F).

평균 MHC class+ 세포 비율은 젖소송아지가 한우보다 초유 섭취전, 1일령과 21일령에 유의성($p < 0.05$)있게 높았다(Fig. 1G). 그러나 MHC class+ 세포 비율은 젖소송아지와 한우송아지 각각 91.3-97.3%와 89.7-94.5%의 비율 범위 내에 있었다. 항원제시세포, B 림프구 및 활성화된 일부 T 림프구가 소유하고 있는 MHC class II+ 세포 비율은 초유 섭취 전을 제외한 대부분의 일령에서 한우송아지가 젖소송아지에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 높았다(Fig. 1H). 한우송아지의 MHC class II+ 세포 비율은 출생 직후 14.7%로 낮았으나 21일령에는 31.2%까지 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였으며, 젖소송아지 MHC class II+ 세포 비율 역시 일령증가에 따라 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였다. 평균 B+ 세포 비율은 한우송아지와 젖소송아지의 연령 증가에 따라 분포비율도 증가하였고, 1일과 21일령에 한우송아지가 젖소송아지에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 높았으나 다른 일령에는 한우송아지와 젖소송아지간의 유의차가 없는 것으로 나타났다(Fig. 1I). 특히 초유 섭취전 젖소신생송아지의 경우 B 세포 분포 비율이 매우 낮았다.

고 찰

혈액내 백혈구는 신생동물의 외부 병원체에 대한 방어, 선천면역 및 임상증상 평가에 있어 중요하다. 이 논문은 한우 신생자우의 면역능 변화를 조사하기 위해 혈액내 백혈구 아형과 말초혈액내 임파구 집단의 변화에 대해 관찰하였다.

한우와 젖소송아지 백혈구수는 조사 기간 성우의 참고범위내에 있었다. 젖소송아지의 경우 일령 증가에 따라 평균 백혈구수가 증가한 반면 한우송아지는 출생직후부터 서서히 감소하였는데 이는 평균 호중구수의 급

격한 감소에 기인하였다. 이 결과는 Adams 등 [7]이 출생시 육우송아지의 총 WBC와 호중구수, 호중구-임파구 비율은 출생후 1일에 현저하게 감소, 육우에서 총 WBC 수 감소는 성숙 호중구 감소에 기인한다는 보고와 일치하였다. Brun-Hansen 등 [9]은 호중구수는 6-8주까지 감소하고, 생애 5주동안 임파구와 단핵구수는 증가한다는 보고와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 한우송아지의 결과는 류와 이 [5]가 보고한 제주도 육우송아지의 평균 WBC 보고와는 차이가 있었다. 출생시 높은 수의 WBC와 호중구, 낮은 수의 임파구는 높은 수준의 cortisol 농도, 품종 및 생리적 변화 등에 의해 차이가 때문일 것이다 [12, 13, 18]. 젖소 및 한우송아지 모두 분만후 호중구가 감소되었는데 이것은 초유 섭취전 저감마글로블린 혈증 상태에서 수동면역이 이행되어 나타난 면역반응인 것으로 생각되지만 기전에 관한 더 자세한 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

한우 및 젖소송아지 모두 임파구의 지속적인 증가가 나타났으나 한우송아지는 평균 호중구수가 감소한 반면 젖소송아지의 평균 호중구수는 유지되었다. 단핵구의 경우 젖소송아지가 한우송아지에 비해 높았다. 그러나 한우 및 젖소 품종간의 백혈구 아형에 대한 보고를 찾아볼 수 없어 직접적인 비교가 어려웠다.

송아지 말초혈액내 평균 CD2+, CD4+, CD8+, CD26+, MHC classC+, MHC class II+ , WC1+ 임파구의 비율은 조사기간 동안 일정하게 안정되어 나타났다. 일반적으로 소의 림프구 비율은 CD2+ 세포 45-60%, CD4+ 세포 15-40%, CD5+ 세포 50-60%, CD8+ 세포 12-17%, WC1 세포 15%, MHC calssII 세포 30-50%, B 세포 20-40%이고 송아지의 WC1 T 세포는 높다고 알려져 있다 [24]. 본 조사에서는 CD2+ 세포 32-45%, CD4+ 세포 15-21%, CD8+ 세포 10-27%, MHC class+ 세포 91-97%, MHC class II+ 세포 10-31%, WC1+ 세포 29-42% 범위로 조사되었다. 이러한 말초혈액내 림프구 성숙과 분포는 호르몬변화에 영향을 받는다고 [8] 알려져 있지만 품종간 직접적인 비교 결과는 찾지 못하였다.

본 연구에서 CD2+ T세포는 유의성은 없었지만 한우송아지보다 젖소송아지에서 발현비율이 높은 경향을 나타내었고, CD4+ T세포는 젖소송아지가 한우송아지보다 일령에 따라 더 높은 발현비율을 나타내었다. 그러나 CD8+ T세포는 젖소 신생송아지에서 높은 수치를 나타내었다. CD26+ 세포와 WC1+ 세포 비율은 젖소와 한우에서 모두 비슷하였다. ACT2+ 세포는 한우와 젖소송아지 모두 연령에 따라 증가하였으며 한우송아지가 젖소송아지보다 높은 비율을 나타내었다. 이와 같이 송아지와 육성우는 성우보다 말초혈액내 림프구 절대수치가 높고 [16], 신생송아지는 성우보다 dTCR을 표현하는 T 세포 비율이 높은 이유는 dT 세포는 선천면역과 후천면역을 연결시키고, 비단백성 항원을 인식하는 능력을 진행시키는 것으로 추정된다 [22, 24, 25]. Wilson 등 [25]은 신생송아지와 송아지의 혈액과 림프조직에서 T-cell subset(CD2, CD4, CD8, d T cell) 림프구분포가 육성우나 성우보다 신생송아지에서 높다고 보고하여 본 연구의 결과와 일치하였다. Clever 등 [10]은 3주령 송아지 WC1은 26%라고 하였으나 본 조사결과의 41%와는 차이가 나타났다. 성장에 따른 dT 세포의 감소는 CD4+와 CD21+ 세포의 절대치가 증가했기 때문이며, 태어나서 생후 9-11주까지 림프구 절대수치가 증가하는 것은 B 세포와 CD4+ T세포 수의 증가 때문이라는 Kampen 등 [14]의 결과와는 차이가 있었다. 그러나 이러한 결과의 차이는 CD4+ 발현비율에 의한 차이보다는 말초혈액내 총 임파구수의 증가에 기인한 것으로 판단된다. ACT2+ 세포비율은 문 등 [4]의 한우와 젖소 성우 비율보다는 낮은 발현비율을 나타내었지만 한우와 젖소송아지 모두 일령에 따라 증가하였기에 성우가 되면 비슷한 비율이 될 것으로 사료된다. 또한 건강한 일본 흑우송아지의 d T 세포의 수가 홀스타인 송아지보다 현저하게 낮다는 보고 [19]와 차이가 있어 추후 일본 흑우와 한국 한우송아지의 혈액 림프구 아분포에 대한 직접적인 비교가 필요하다.

CD8+ T 세포는 help T 세포에서 분비되는 IL-2와 MHC class 복합체에 의해 활성화되며 바이러스 감염에 중요한 역할을 한다. Wilson 등 [25]은 CD8+ 세포 비율이 태아기 때를 제외한 대부분의 일령에서 비슷하다고 하였으나, 본 조사에서는 초유 섭취전 한우신생송아지와 젖소신생송아지에서 차이를 나타내었다. 평균 MHC class+ 세포 비율은 젖소송아지가 한우송아지보다 높았으나 MHC class II+ 세포 비율은 한우송아지가 젖소송아지보다 높았다. 이는 문 등 [4]의 한우와 젖소 성우의 MHC class+ 비율과 유사하였으나 MHC class II 발현비율 한우 15.9%, 젖소 9.6%과는 차이가 있었으나, 한우가 젖소보다 높은 수준의 MHC class II 발현세포가 정상적으로 존재한다는 보고 [4, 21]와 일치하였다. 이러한 차이가 성장단계별 또는 개체 차이에 의한 것인지는 조사해 보아야 할 것으로 판단된다. 말초 혈액내 평균 B+ 세포 비율은 한우송아지와 젖소송아지의 연령에 따라 발현비율도 증가하였다. Kampen 등 [14]은 송아지 말초혈액내 T 세포 비율이 성우의 비율과 비교할만하지만 B 세포 비율은 연령에 따라 유의성있게 증가한다는 내용과 일치한다.

Menge 등 [17]은 신생송아지의 초유급여가 말초혈액 백혈구수치에 영향을 미치지 않았지만 생후 4시간내 CD2+, CD6+와 CD8+ 세포는 감소되었고 CD4+, WC1+

과 CD21+은 유지되었으며 MHC class II+ 세포와 monocyte는 상승하였고, 3-9주령 송아지에서 MHC class II+ 세포 비율이 B세포와 IL-A24+ 세포보다 많다고 보고하였다. 이것은 송아지의 혈액내 MHC class II+ 세포가 많다는 것을 의미한다. 신생송아지에서는 B 세포와 monocyte보다 MHC class II+ 세포가 적은 이유는 일반 송아지보다 신생송아지에서 B 세포수가 적기 때문이다. 이것은 혈청 항체가 B 세포 분화 및 증식을 방해하고, 모체면역글로불린(Ig)이 없는 상태로 신생송아지가 태어나기 때문이다. 본 조사 결과 T세포 아집단 비율의 개체간 차이는, 개체간 임파구 아집단 비율의 현저한 개체간 차이가 있지만 T세포 subset 비율이 시간에 따라 개체간내 적은 변화는 말초혈액내 T 세포 아집단이 비교적 안정된 수준임을 나타낸다는 Kampen 등 [14]의 실험 결과와 일치하였다.

본 연구에서 조사된 바와 같이 질병의 감수성과 내병성에 가장 깊은 관련이 있는 MHC class II+ 세포비율이 높게 나타났으나 CD4+ T 림프구의 분포는 한우 및 젖소송아지에서 비슷하게 나타났다. 이러한 결과는 문 등 [4]이 발표한 보고와는 차이가 있었다. 본 연구의 결과는 신생송아지가 3-9주령 송아지보다 과립성 백혈구 절대수치가 많았고 T세포 아집단 수치는 신생우나 송아지와 비슷하였으나 신생송아지의 B세포와 MHC class II+ 세포비율은 낮았다는 보고 [17]와 Wyatt 등 [26]의 결과와 유사하였다. 이러한 결과는 신생송아지 혈액내 면역세포의 탐식능력은 떨어지지만 다른 기전과 높은 수치의 PMNL에 의해 보상되며, 또한 영양상태 및 질병의 감염상태에 따라 혈액중 면역세포의 변화가 관찰된다는 연구자들의 보고 [17, 19]와 유사한 결론을 나타내었다. 그러나 신생송아지의 질병상태에 대한 연구가 미비하여, 감염상태에 따른 송아지의 면역상태에 대한 조사가 추후 더 연구되어야 할 것이다.

결 론

우리나라 한우와 젖소 신생송아지의 성장일령에 따른 혈액내 면역세포의 분포를 비교 조사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

말초 혈액내 백혈구수치는 생후 5일령 이후부터 젖소송아지가 한우송아지보다 유의성($p < 0.01$)있게 높게 나타났다. 말초혈액내 호중구수치는 초유 섭취 전부터 생후 7일령까지 한우가 젖소보다 유의성 있게 높았다. 젖소송아지의 혈액내 림프구와 비율은 초유 섭취 전부터 생후 21일령까지 한우송아지보다 유의성($p < 0.01$)있게 높았다. 단핵구 수치와 비율은 초유 섭취 전부터 생후 21일령까지 젖소송아지가 한우송아지보다 유의성($p < 0.01$)있게 높았다. 호산구 수치와 비율은 초유 섭취 전부터 21일령까지 한우송아지가 젖소송아지보다 유의성($p < 0.01$)있게 높았다

말초혈액내 CD4+ 세포비율은 14일과 21일령에 젖소송아지가 한우송아지보다 유의성($p < 0.05$)있게 높았다. CD8+ 세포 비율은 초유 섭취전 젖소 신생송아지가 한우 신생송아지보다 유의성($p < 0.05$)있게 높았다. ACT2 세포비율은 대부분의 일령에서 한우송아지가 젖소송아지보다 유의성($p < 0.05$)있게 높게 나타났다.

CD26, d T 세포 수용체(TCR1; WC1) 발현세포 비율은 젖소송아지와 한우송아지에서 모두 유사한 경향을 나타내었다. MHC class 비율은 초유 섭취전 1일령과 21일령에 젖소송아지가 한우송아지보다 유의성($p < 0.05$)있게 높았다. MHC class II 림프구 비율은 초유 섭취전을 제외한 대부분의 일령에서 한우송아지가 젖소송아지에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 높았다. B 세포비율은 1일과 21일령에 한우송아지가 젖소송아지에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 높았으며 송아지 연령이 증가함에 비율도 증가하였다.

참고문헌

1. **김두, 한홍율.** 한우 송아지의 초유섭취에 의한 수동면역 획득 상태. 대한수의학회지 1989, **29**, 75-81.
2. **김두, 한홍율.** 한우 송아지의 초유섭취에 의한 수동면역이 포유기간 중의 질병발생에 미치는 영향. 대한수의학회지 1989, **29**, 91-98.
3. **김정기, 장국현, 김태종, 윤화중.** 강원도 지역 한우의 혈액상에 관한 연구. 대한수의사회지 1989, **25**, 102-107.
4. **문진산, 박용호, 정석찬, 구복경, 강병규.** 백혈구 표면항원 특이 단크론항체를 이용한 한우의 말초혈액 백혈구 아군에 대한 연구. 대한수의학회지 1996, **36**, 337-348.
5. **류경표, 이경갑.** 포유기 송아지의 혈액화학치의 변화. 한국임상수의학회지 1997, **14**, 201-207.
6. **정창국.** 한국성우의 혈액학치 및 혈액화학치에 관한 연구. 대한수의학회지 1965, **5**, 61-96.
7. **Adams R, Garry FB, Aldridge BM, Holland MD, Odde KG.** Hematologic values in newborn beef calves. Am J Vet Res 1992, **53**, 944-950.
8. **Ayoub IA, Yang TJ.** Age-dependent changes in peripheral blood lymphocyte subpopulations in cattle: a longitudinal study. Dev Comp Immunol 1996, **20**, 353-363.
9. **Brun-Hansen HC, Kampen AH, Lund A.** Hematologic values in calves during the first 6 months of life. Vet Clin Pathol 2006, **35**, 182-187.
10. **Clevers H, MacHugh ND, Bensaid A, Dunlap S,**

Baldwin CL, Kaushal A, Iams K, Howard CJ, Morrison WI. Identification of a bovine surface antigen uniquely expressed on CD4-CD8- T cell receptor γ/δ^+ T lymphocytes. Eur J Immunol 1990, **20**, 809-817.

11. **Davis WC, Marusic S, Lewin HA, Splitter GA, Perryman LE, McGuire TC, Gorham JR.** The development and analysis of species specific and cross reactive monoclonal antibodies to leukocyte differentiation antigens and antigens of the major histocompatibility complex for use in the study of the immune system in cattle and other species. Vet Immunol Immunopathol 1987, **15**, 337-376.
12. **Holman HH.** The blood picture of the cow. Br Vet J 1955, **111**, 440.
13. **Jain NC.** Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. pp. 98-99, Lea & Febiger, Philadelphia. 1986.
14. **Kampen AH, Olsen I, Tollersrud T, Storset AK, Lund A.** Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life. Vet Immunol Immunopathol 2006, **113**, 53-63.
15. **Knowles TG, Edwards JE, Bazeley KJ, Brown SN, Butterworth A, Warriss PD.** Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. Vet Rec 2000, **147**, 593-598.
16. **Kulberg S, Boysen P, Storset AK.** Reference values for relative numbers of natural killer cells in cattle blood. Dev Comp Immunol 2004, **28**, 941-948.
17. **Menge C, Neufeld B, Hirt W, Bauerfeind R, Baljer G, Wieler LH.** Phenotypical characterization of peripheral blood leucocytes in the newborn calf. Zentralbl Veterinarmed B 1999, **46**, 559-565.
18. **Mohri M, Sharifi K, Eidi S.** Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. Res Vet Sci 2007, **83**, 30-39.
19. **Ohtsuka H, Fukunaga N, Fukuda S, Hatsugaya A, Hayashi T, Hara H, Koiwa M, Abe R, Kawamura S.** Effect of nutritional conditions on changes in leukocyte populations in Japanese black calves. J Vet Med Sci 2005, **67**, 183-185.
20. **Ohtsuka H, Fukunaga N, Hara H, Fukuda S, Hayashi T, Hoshi F, Yoshino TO, Koiwa M, Kawamura S.** Changes in peripheral leukocyte populations of weak calf syndrome of Japanese black calves. J Vet Med Sci 2003, **65**, 793-796.
21. **Park YH, Fox LK, Hamilton MJ, Davis WC.** Bovine mononuclear leukocyte subpopulations in peripheral blood and mammary gland secretions during lactation. J Dairy Sci 1992, **75**, 998-1006.
22. **Pollock JM, Welsh MD.** The $WC1^+$ $\gamma\delta$ T-cell population in cattle: a possible role in resistance to intracellular infection. Vet Immunol Immunopathol 2002, **89**, 105-114.
23. **Suh GH, Hur TY, Son DS, Choe CY, Jung YH, Ahn BS, Lee CY, Lee CG.** Differences in the serum immunoglobulin concentrations between dairy and beef calves from birth to 14 days of age. J Vet Sci 2003, **4**, 257-260.
24. **Tizard IR.** Veterinary Immunology: An Introduction. pp. 98-103, Saunders, Philadelphia, 2004.
25. **Wilson RA, Zolnai A, Rudas P, Frenyo LV.** T-cell subsets in blood and lymphoid tissues obtained from fetal calves, maturing calves, and adult bovine. Vet Immunol Immunopathol 1996, **53**, 49-60.
26. **Wyatt CR, Madruga C, Cluff C, Parish S, Hamilton MJ, Goff W, Davis WC.** Differential distribution of gamma delta T-cell receptor lymphocyte subpopulations in blood and spleen of young and adult cattle. Vet Immunol Immunopathol 1994, **40**, 187-199.