

알콜급식이 마우스의 전신성 능동성 아나필락시스 유발에 미치는 억제작용

전북대학교 의과대학 미생물학교실

하 대 유

서 론

에타놀(ethanol)을 과량섭취하면 숙주의 보호능력을 감소시켜 미생물 감염에 대한 감수성이 증가되고^{1,2)} 알콜성 간염, 알콜성 간경변, 악성종양, 심내막염등의 질병발생빈도가 높다는 보고들이 있고¹⁻¹²⁾ 에타놀을 실험동물에 투여하거나 사람들이 에타놀을 남용 또는 과음하면, 여러가지 면역반응의 이상(immunological abnormalities) 즉 항체반응의 장애, 마이토젠에 대한 림프구의 증식반응 감소, 지연성 과민(DTH) 반응의 감소등이 일어난다는 보고가 축적되고 있다¹⁻¹³⁾. 뿐만 아니라 알콜은 기형발생원(teratogen)으로도 알려져 있고^{5,14)}, 임신모가 과량의 알콜을 마시거나 모성알콜 중독환자는 평균지능지수가 65~82밖에 되지 않은 정신박약을 나타내고 T 세포 및 B 세포결핍과 성장 지연을 나타내는 태아성 알콜증(fetal alcohol syndrome) 아이를 분만 하기 때문에 중대한 사회문제로 대두되고 있다^{3,14-18)}. 그러나 에타놀이 면역반응에 미치는 영향에 관한 많은 축적된 연구보고에도 불구하고 에타놀급식이 즉시형 과민반응 특히 능동성 아나필락시스(active systemic anaphylaxis, ASA)에 미치는 영향에 관한 연구보고는 찾아볼 수 없든 바 최근 단편적이기는 하지만 본 저자는 에타놀이 ASA에 미치는 영향에 관하여 보고¹³⁾ 한 바 있다. 따라서 저자는 본 연구에서 에타놀이 ASA 유발에 미치는 영향에 미치는

지전을 확대하고자 chicken gamma globulin(CGG) 또는 egg albumin(OVA)으로 ASA을 유도하여, 에타놀 급식이 ASA 유발에 미치는 영향을 실험하였던 바 흥미있는 실험결과를 얻었으므로 그 결과를 제시하고자 한다.

실험재료 및 방법

실험동물: 생후 7~8 주된 ICR 마우스를 한국화학연구소에서 구입하여 암수 구별없이 사용하였으나 실험군 및 대조군은 동성(sex-matched)의 마우스를 사용하였다. 이들 마우스는 폴리카보네이트 케이지에 5~10 마리씩 넣어 수도물과 실험동물 펠렛사료(제일 사료 주식회사, 대전)을 공급하고 가능한 스트레스를 받지 않도록 사육하였다.

항 원: 능동성 전신성 감작항원으로서는 chicken-gamma globulin(CGG, Cappel Laboratories, Cochranville, Pa)과 ovalbumin(OVA, 5x crystallized, Miles Laboratories, Inc., Kankakee, Ill.)를 사용하였다.

알콜투여: 에타놀(ethanol, E. Merck, Darmstadt, Germany)을 수도물에 10% 에타놀이 되도록 희석하여 음료수로서 공급하였으며, 음료수와 펠렛사료(제일 사료 주식회사, 대전)을 마음대로 먹고 마시도록 44, 72, 또는 80일간 급식하였다. 대조 마우스는 펠렛사

료와 수도물을 마음대로 먹고 마시도록 하였다.

능동성 전신성 아나필락시스 유발을 위한 CGG 또는 OVA 감작과 야기주사 : Ha등¹⁹⁻²²⁾ 및 하 등²³⁻²⁶⁾의 방법에 따라 CGG 또는 OVA로 능동성 전신성 아나필락시스를 유도 하였다. 간기하면, 500ug CGG 또는 100 ug OVA, 1mg 명반 및 2~10⁹ 세포가 포함된 백일해균 백신이 들어있는 혼합액 0.5ml를 마우스에 단 1 회 복강주사하여 감작하였다. 감작마우스와 대조마우스는 감작 후 18일에 500ug의 CGG 또는 OVA(0.25ml)를 정맥주사하여 야기주사(challenge)하였고, 필요에 따라서 1차 야기주사 후 1주일 후에 2차 야기주사를 실시하여 CGG 또는 OVA에 대한 능동성 아나필락시스를 유발하였다. 야기주사 후 나타나는 아나필락시스의 정도는 제 1 표에서 보는 바와 같이 나타나는 증상의 정도에 따라 속스코어(shock score)를 정하였다¹⁹⁾. 속 스코어 0은 마우런 증상이 나타나지 않는 경우, 1은 운동이 약간 감소하고 털이 일어선 경우, 2는 몸의 균형을 잘 잡지 못하고 호흡곤란이 온 경우, 3은 불 펜으로 수염을 건드리거나 몸통을 가볍게 찌러도 반응이 없는 경우, 4는 뒷다리에 마비가 온 경우, 5는 핀셋을 이용하여 마우스 꼬리를 꼬집어도 Haffner²⁷⁾ 반응이 없는 경우, 6은 발작과 혼수상태를 초래했으나 회복된 경우, 7은 야기주사 후 30~60분에 사망한 경우 그리고 8은 야기주사 후 15분 이내에 사망한 경우등으로 각각 정하였다. 아나필락시스 속으로 인한 사망율은 감작 마우스를 야기주사하여 사망한 마우스 마리수를 관찰하여 백분율을 계산하였다.

통계학적 분석 : Chi-square test 및 student t-test를 이용하였고 유의수준은 $p < 0.05$ 를 기준으로 하였다.

실험 성적

에타놀 급식이 CGG로 유도한 ASA에 미치는 영향 : 마우스에 10% 에타놀을 72일간 급식한 다음 CGG로 감작하고 18일 후에 CGG로 야기주사하여 ASA 유발에 미치는 영향을 관찰하였다. 그 결과 제 1도에서 보는 바와 같이 에타놀투여 마우스의 ASA 속 스코어 및 ASA에 의한 사망율은 에타놀을 투여하지 않은 대조 마우스에 비하여 유의하게 감소되었다.

에타놀 급식이 OVA로 유도한 ASA에 미치는 영향 : 마우스에 10% 에타놀을 44일간 또는 80일간 급식한 후 OVA로 감작하고 18일 후에 OVA로 야기주사하여 ASA 유발에 미치는 영향을 실험하였다. 그 결과 제 2도에서 보는 바와 같이 44일간 에타놀을 급식하였을 때 그리고 제 3도에서 보는 바와 같이 에타놀을 80일간 급식하였을 때 에타놀투여 마우스의 ASA에 의한 사망율은 에타놀을 투여하지 않은 대조 마우스에 비하여 유의하게 감소되었고 CGG로 ASA를 유발할 때 처럼 그 억제 작용이 현저하지는 않았다.

고 찰

알콜투여는 체액성 면역반응 감소⁶⁾, 세포성 면역반응 감소⁹⁾, 림프구증식반응 감소^{10,28)}, 그리고 자연살해

Table 1. Scoring of active systemic anaphylaxis

Shock Score	Sign
0	No sign of shock
1	Decreasing bouts of spontaneous activity and piloerection
2	Loss of coordination and dyspnea
3	No activity following whisker stimuli and slight activity after prodding with ball-point pen
4	No activity following whisker stimuli, progressive paresis beginning with the hid leg
5	No activity following Haffner's tail pinching stimuli by forcep
6	Brief but violent convulsion, prostration, coma or substantial recovery
7	Fatal shock(died within 30-60min)
8	Fatal shock(died within 15min)

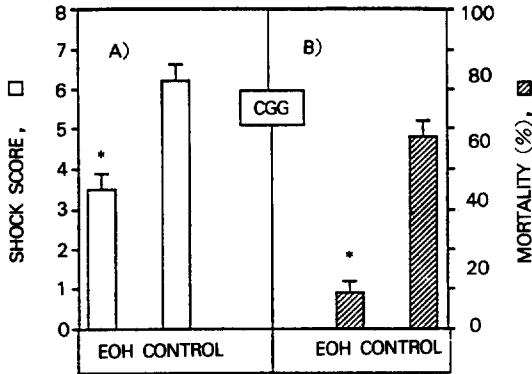


Fig. 1. Effect of ethanol(EOH) feeding on active systemic anaphylaxis induced by CGG in ICR mice. All mice were sensitized by a single intraperitoneal injection(0.25ml) of 500ug CGG plus *Bordetella pertussis* vaccine containing 2×10^9 cells and 1mg alumn and were challenged by i.v. injection of 500ug CGG 18 days later. A part of mice were continuously fed ad libitum both pellet and 10% ethanol solution in their drinking water for 72 days before sensitization. Control mice(No EOH) were fed ad libitum both pellet and water. Shock score and mortality were determined as described in Materials and Methods. Each column and each bar represents the mean value $\pm$ SD from 10 mice. * $p < 0.05$ as compared with controls.

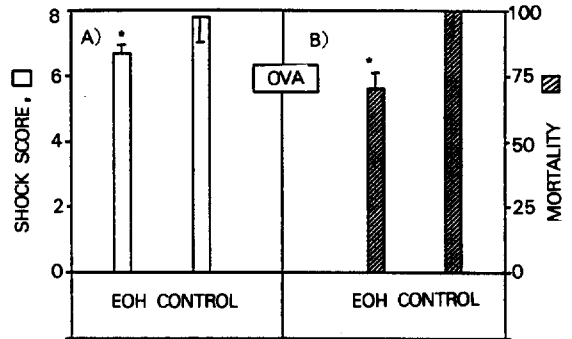


Fig. 2. Effect of ethanol(EOH) feeding on active systemic anaphylaxis induced by egg albumin(OVA) in ICR mice. All mice were sensitized by a single intraperitoneal injection (0.25ml) of 500ug OVA plus *Bordetella pertussis* vaccine containing 2×10^9 cells and 1mg alumn and were challenged by i.v. injection of 500ug OVA 18 days later. A part of mice were continuously fed ad libitum both pellet and 10% ethanol solution in their drinking water for 44 days before sensitization. Control mice(No EOH) were fed ad libitum both pellet and water. Shock score and mortality were determined as described in Materials and Methods. Each column and each bar represents the mean value $\pm$ SD from 24 mice. * $p < 0.05$ as compared with controls.

(NK)세포 활성을 감소²⁹⁾시키고 흥선과 비장의 무게를 감소시킨다¹⁴⁾는 등 에타놀이 면역반응에 미치는 영향에 관한 많은 보고들이 축적되고 있고, 에타놀 투여는 IL-2와 IL-의 생산을 조절한다는 보고^{11,13)} 등이 있다. 또한 에타놀급식이 NK세포활성을 증가시킨다는 보고³⁰⁾가 있는가 하면, 오히려 감소시킨다는 보고^{13,29)}도 있다. 본 실험에서 CGG으로 마우스를 감작하기전 72일간 10% 에타놀을 급식하면 ASA 속 스코어 및 ASA 유발로 인한 사망율이 에타놀을 투여하지 않은 대조 마우스의 그것들에 비하여 현저하게 저하되었

는데, 이는 Ha의 보고¹³⁾와 일치하였다. 뿐만아니라, 항원을 OVA로 감작하기전 44일 또는 80일 에타놀을 급식하였을 때도 에타놀 투여 마우스의 ASA 속 스코어 및 사망율이 대조 마우스에 비하여 유의하게 높았다. 이와 같은 결과는 예측하지 못한 놀라운 실험결과라고 사료되었으며, 본 실험에서 관찰한 에타놀이 CGG 또는 OVA에 의한 ASA 유발 억제작용 기전은 에타놀이 세포막에 미치는 disordering 영향이 있다는 Chin 등³¹⁾ 및 Goldstein 등³²⁾의 보고, 그리고 에타놀이 랫트의 비반세포로 부터의 Con A 또는 somatostatin 자극에 의

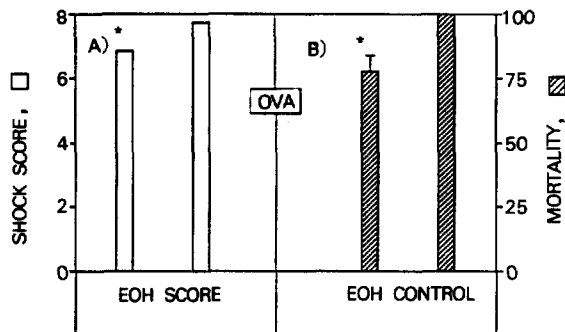


Fig. 3. Effect of ethanol(EOH) feeding on active systemic anaphylaxis induced by OVA in ICR mice. All mice were sensitized by a single intraperitoneal injection(0.25ml) of 500ug OVA plus *Bordetella pertussis* vaccine containing 2×10^9 cells and 1mg alum and were challenged by i.v. injection of 500ug CGG 18 days later. A part of mice were continuously fed ad libitum both pellet and 10% ethanol solution in their drinking water for 80 days before sensitization. Control mice(No EOH) were fed ad libitum both pellet and water. Shock score and mortality were determined as described in Materials and Methods. Each column and each bar represents the mean value $\pm$ SD from 10 mice. * $p < 0.05$ as compared with controls.

한 히스타민의 유리를 억제했다는 Gonzales등¹⁵⁾의 보고를 참작하면, 에타놀이 CGG 또는 OVA와 같은 특이항원수용체 매개성 히스타민 유리를 억제했을 가능성을 생각할 수 있고, neurotransmitter receptor binding site는 membrane fluidity 변화에 의해서 변화될 수 있는³³⁾ 바 Gonzales등¹⁵⁾도 고안하였듯이 에타놀이 수용체 결합부위를 변화시켰으나 second messenger coupling 또는 signal transduction을 변화시켰으나, 또는 어떤 membrane-sensitive receptor system을 에타놀이 선택적으로 방해하여 neurotransmission의 불균형을 초래했을 가능성도 생각할 수 있었으며 Gonzales등¹⁵⁾

은 비반세포막의 membrane order를 diphenylhexatriene의 fluorescent polarization으로 분석하여 에타놀(10~500mM)이 비반세포막의 membrane order를 감소시킴을 시사하는 형광분극감소현상을 관찰한 바 있다. 그러나 본 실험만으로는 그 ASA 억제기전을 확실히 알 수 없었다.

이상 저자는 에타놀급식이 단백항원인 CGG 또는 OVA로 유발한 ASA를 억제함을 알 수 있었는데 알콜은 가장 빈번히 애용되기도 하고 남용되기도 하는 정신활동성 화학물질이기 때문에 알려지고 관련하여 앞으로 더욱 광범위하게 연구되어야 할 중요한 연구과제라고 사료되었다.

결 론

에타놀 급식은 chicken-gamma globulin(CG) 또는 egg albumin(OVA)로 유도한 능동성 전신성 아나필락시스(active systemic anaphylaxis)를 유의하게 억제하였다.

— Abstract —

Inhibitory Effects of Ethanol Feeding on Active Systemic Anaphylaxis in Mice

Tai-You Ha, M.D., Ph.D.

Department of Microbiology and Immunology, Chonbuk National University Medical School, Chonju, Chonbuk 560-182, Republic of Korea

There has been a numbers of reports that demonstrates that the administration of ethanol results in a number of immunological abnormalities, including an impaired humoral and cellular immune responses, an increased

susceptibility in infection and a decreased NK cell activity. Recently, Gonzales et al showed that ethanol inhibited Con A- and somatostatin-stimulated histamin release from rat mast cells. This study was attempted to investigate whether ethanol feeding to mice may inhibit the active systemic anaphylaxis(ASA) induced by chicken-gamma globulin(CGG) or egg albumin(OVA). Mice were fed ad libitum both pellet and 10% ethanol solution in their drinking water for 44, 72 or 80 days before sensitization. Mice were sensitized by i.p. injection of 500ug CGG or OVA, 1.0mg alum and 2×10^9 *Bordetella pertussis* in 0.5ml PBS and were challenged by i.v. injection of 0.25ml PBS containing 500ug CGG or OVA 18 days after sensitization. Shock was scored 30 min after challenge as described previously. Ethanol feeding for 44 80 days inhibited ASA induced by OVA and ethanol feeding for 72 days also inhibited CGG-induced ASA. Taken together, it can be concluded that ethanol feeding may inhibit the induction of ASA induced by CGG or OVA and that further studies are necessary to clarify the underlying mechanisms to accounting for this inhibition.

참 고 문 헌

- 1) Adama HG and Jordan C : Infections in the alcoholic. Med. Clin North Am 68 : 179, 1984
- 2) 하대유 · 박영민 · 전상남 · 이정호 · 이현구 · 김정수 : 알콜이 면역반응에 미치는 영향. 대한미생물학회지 25 : 265, 1990
- 3) Grossman CJ, Mendenhall CL and Roselle GA : Alcohol and immune regulation. I. In vivo effects of ethanol on concanavalin A sensitive thymic lymphocyte function Int J Immunopharmac 10 : 187, 1988
- 4) MacGregor RR : Alcohol and immune defense. JAMA 256 : 1474, 1986
- 5) Ewald SJ and Frost WW : Effect of prenatal exposure to ethanol on development. Thymus 9 : 211, 1987
- 6) Jerrells TR, Marietta CA, Eckardt MJ, Majchroxa E and Weight FF : Effects of ethanol administration on parameters of immunocompetency in rats. J Leukocyte Biol. 39 : 499, 1986
- 7) Roselle GA and Mendenhall CL : Ethanol-induced alterations in lymphocyte function in guinea pig. Alcoholism : Clin Exp Res 8 : 62, 1984
- 8) Dehne N, Mendenhall C, Grossman C, Roselle G and Ghosn S : The effect of acute ethanol consumption on in vivo cellular immune function. Fedn Proc Fedn Am Socs Exp Biol 46 : Abstract 2313, 1987
- 9) Mendenhall CL, Grossman CJ, Roselle GA, Ghosn SJ, Coyt TY, Thompson S and Dehne NE : Phytohemagglutinin skin test responses to evaluate in vivo cellular immune function in rats. Proc Soc Exp Biol Med 190 : 117, 1989
- 10) Kaplan DR : A novel mechanism of immunosuppression mediated by ethanol. Cell Immunol 102 : 1, 1986
- 11) 하대유 · 박병숙 · 황희성 : 알콜이 IL-2 및 IL-6 생산과 체액성 및 세포성 면역반응에 미치는 영향. 대한면역학회지 13 : 17, 1991
- 12) 이미애 · 이금영 · 기명희 · 하대유 : 에타놀투여 모체로 부터 분만된 랫트의 면역반응 잠재력. 대한미생물학회지, 26 : 355, 1991
- 13) Ha TY : Effect of ethanol feeding on interleukin production, tumor induction and other immunocompetency in mice. Program and Abstract of The Second International Conference on Alcohol, Drugs of Abuse, and Immunomodulation(AIDS), September 9-12, 1992, Tucson, Arizona U.S.A., p39
- 14) Ewald SJ and Walden SW : Flow cytometric

- and histological analysis of mouse thymus in fetal alcohol syndrome. J Leukocyte Biol. 44 : 434, 1988
- 15) Gonzales RA and Crews FT : Correlation of ethanol's membrane actions and inhibition of receptor-stimulated histamine release from rat mast cells. J Pharmacol Exp Ther 239 : 11, 1986
- 16) Johnson S, Knight R, Marmer DJ and Steele RW : Immune deficiency in fetal alcohol syndrome. Pediatr Res 15 : 908, 1981
- 17) Dow-Edwards DL, Trachtman H, Riley EP, Freed LA and Milhorat TH : Arginine vasopressin and body fluid homeostasis in the fetal alcohol exposed rat. Alcohol 6 : 193, 1989
- 18) Miller MW and Dow-Edwards DL : Structural and metabolic alterations in rat cerebral cortex induced by prenatal exposure to ethanol. Brain Research 474 : 316, 1988
- 19) Ha TY, Lee HK, Lee WH, Kim KS and Park YM : Failure of anti-IL-4 antibody to prevent the chicken-gamma globulin-induced active systemic anaphylaxis : Involvement of IgG antibodies in induction of the anaphylaxis. Korean J. Immunol 13 : 33, 1991
- 20) Ha TY, Reed ND and Crowle PK : Immune response potential of mast cell-deficient W/W mice. Int. Archs Allergy Appl. Immunol 80 : 85, 1986
- 21) Ha TY and Reed ND : Systemic anaphylaxis in mast cell-deficient mice of W/W and SI/SI^d genotypes. Exp Cell Biol 55 : 63, 1987
- 22) Ha TY, Lee HK and Park YM : Effect of *in vivo* administration of anti-IL-4(11B11) antibody on induction of active systemic anaphylaxis in mice. Abstracts of 5th International Conference on Immunopharmacology May 26-30, 1991, Tampa, Florida U.S.A. Abstract No. 169
- 23) 하대유 · 박영민 · 한상연 : Cyclosporin A, carbenicillin, epinephrine 및 steroid hormone이 마우스의 능동성 전신성 anaphylaxis에 미치는 영향, 대한면역학회지 9 : 169, 1987
- 24) 하대유 : 비반세포 결핍마우스의 면역학적 잠재력과 기생충 구제 전복의대논문집 8 : 289, 1984
- 25) 하대유 · 박영민 · 박광섭 : *Vibrio vulnificus*, 상백피 및 cyclosporin A가 마우스의 능동성 전신성 아나필락시스 유도에 미치는 영향. 알레르기 9 : 351, 1989
- 26) 하대유 · 김종선 · Reed ND : 바반세포 결핍 W/W 및 SI/SI^d 마우스에서의 지연성 과민반응과 active systemic anaphylaxis 유발. 대한면역학회지 8 : 137, 1986
- 27) Haffner F : Experimentelle durfung des schmerzstillender Mittel. Deut Med Wochschr 55 : 731, 1929
- 28) Watson DR : Ethanol immunomodulation and cancer. Prog. Food Nutr Sci 12 : 189, 1988
- 29) Mufti SI, Prabhala R, Moriguchi S, Sipes IG and Watson RR : Functional and numerical alterations induced by ethanol in the cellular immune system. Immunopharmacology. 15 : 85, 1988
- 30) Saxena QB, Saxena RK and Adler WH : Regulation of natural killer activity in vivo : Part IV High natural killer cell activity in alcohol drinking mice. Ind J Exp Biol 19 : 1001, 1981
- 31) Chin JH and Goldstein DB : Membrane disordering action of ethanol : Variation with membrane acholesterol content and depth of the spin label probe Mol Pharmacol 19 : 425, 1981
- 32) Goldstein DB, Chin JH and Lyon RC : Ethanol disordering spinlabeled mouse brain membranes : Correlation with genetically determined ethanol sensitivity of mice. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 79 : 4231, 1982