J. Fd Hyg. Safety 21(2), 113–117 (2006)

면역기능 증강성 신물질에 대한 돼지에서의 면역 증강성 실험

정지윤[2] · 안남식 · 박준석 · 조은혜 · 황재웅 · 박정란 · 김선중 · 이영건 · 정윤혁 · 정지혜 · 이성호[2] · 박영석[2] · 박병권[2] · 김병수[2] · 김상기[2] · 이상범[1] · 이계호[1] · 강경선 · 이영순†

서울대학교 수의과대학 공중 보건학 교실, [1](주)코코엔터프라이즈

[2]공주대학교 산업과학대학 특수동물학과

The Effects of New Nonspecific Immunostimulators in Pig

Ji-Youn Jung[2], Nam-Shik Ahn, Joon-Suk Park, Eun-Hye Jo, Jae-Woong Hwang, Jung-Ran Park, Sun-Jung Kim, Yong-Geon Lee, Yun-Hyeok Jeong, Ji-Hye Chung, Seung-Ho Lee[2], Young-Seok Park[2], Byung-Kwon Park[2], Byeong-Soo Kim[2], Sang-Ki Kim[2], Sang-Bum Lee[1], Ke-Ho Lee[1], Kyung-Sun Kang, and Yong-Soon Lee†

Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

[1]Koko enterprise Co., Ltd, Cheong-won gun, Chung-buk, Korea

[2]Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Chung-nam, Korea.

(Received June 1, 2006/Accepted June 25, 2006)

ABSTRACT – New nonspecific immunostimulators (Koko enterprise Co., Ltd., Korea) were evaluated for its effectiveness as a nonspecific immunostimulator in pigs. The effects of new nonspecific immunostimulators were determined by analysis of cytokines using ELISA and blood-chemistry. IFN-r which is one of the cell mediated immune cytokines significantly increased in DIR-vitamineral 0.2% group posttreatment 4 weeks and was significantly higher IMF 0.2%, DIR-vita 0.1% and DIR-vitamineral 0.2% groups than control group in 3 months. DIR-vitamineral 0.2% had a most strong effectiveness as a nonspecific immunostimulator in our treatment materials in pigs. IMF 0.2% and DIR-vita 0.1% were seen that there had effectiveness of a nonspecific immunostimulator in posttreatment 3 months. IgG, IgM and Total Ig which were humoral immune globulins, were not significantly changed in posttreatment 4 weeks and 3 months. In conclusion, this study has demonstrated that new nonspecific immunostimulators had an immunostimulatory effect on pigs through cell mediated immune response.

Key words: nonspecific immunostimulator, cytokines, IFN-r, IgG, ELISA

최근 축산업이 집단사육 형태로 대규모화 되어감에 따라 운영과 관리면에서는 효율성을 높일 수 있게 되었으나 질병 원인체에 노출될 가능성과 질병전파의 위험성은 더욱 높아지게 되었으며 이에 따라 질병을 예방 치료하기 위한 치료 약제의 집중적인 사용이 증가하고 있다.[1)] 이러한 질병감염의 위험성을 배제하기 위하여 주요 가축질병의 예방을 위한 백신개발 및 백신프로그램작성, 항균제의 사료첨가제에 의한 사전 감염차단은 물론, 초기 감염 시 감수성 높은 항균제 선발에 의한 적절한 치료 대책 수립 등 다양한 방법이 이용되고 있으며, 항균제 내성균이 사람에게 전파되지 않는 안전축산물을 생산하기 위하여는 항균제 사용에 대한 적절한 기준 설정이 필요하다고 한다.[2)] 그러나, 이러한 질병예방과 치료를 위한 방법 중에서 백신의 이용은 포괄적인 질병방어 보다는 제한된 특정질병 원인체에 대해서만 소기의 성과를 기대할 수 있을 뿐만 아니라 병원성이 높은 미생물의 감염 시에는 그나마 기대에도 미치지 못하는 결과를 가져오게 된다.[3)] 항균성 약제에 의한 질병 예방 및 치료는 일시적인 효과는 있으나 근본적이고 종합적인 질병방제를 이루기에는 매우 미흡하며, 무분별한 약제의 오용 및 남용은 추후 더욱 강력한 항균제를 필요로 하게 되고 결과적으로는 내성균의 만연으로 인하여 질병의 확산 및 난치성 질병을 유발할 수 있다는 점에서 신중을 기하여야 할 방법이다. 또한, 최근에는 사료첨가용이나 치료약제로 이용되고 있는 동물용 항균제의 무절제한 사용과 휴약기간의 미준수로 항균제 다제 내성균의 출현을 초래하게 되었고 이에 따른 항균제의 축산물내 잔류로 인하여 축산물을통한 인체에 미치는 영향이 크게 우려되고 있다.[1,3)] 따라서, 축산과 동물 생체에 치명적인 악영향을

†Author to whom correspondence should be addressed.

미치는 이러한 질병에 대한 예방제 및 치료제의 대체물질 개발에 대한 연구가 전 세계적으로 매우 활발히 이루어지고 있으며, 많은 과학자들은 동물생체에 잔류하지 않고 인체에 영향을 주지 않는 항균제 약제, 생리활성 물질, 생균제 또는 생체 면역증강제에 대한 집중적인 연구를 하고 있는 실정이다.[4,5] 특히 생체면역을 종합적으로 증강시킴으로서 백신 접종효과의 증진을 가져오거나, 야외에서 침입하는 질병 원인체에 대한 생체방어능 항진을 유도하는 비특이 면역증강제의 개발에 여러 선진국에서 관심이 모아지고 있고 그 효용성이 발표되고 있으나,[6-8] 국내에서의 연구 발표는 아직 미미한 실정이다. 이러한 국내외의 연구개발 현황을 비추어 볼 때 국내에서도 Immu-Forte가 최근에 개발되어 비특이 면역증강제로서의 가능성을 확인 한 바 있으며, 그 결과로서 실험 동물인 마우스에서 면역증강성을 높여 주는 것으로 확인되었다.[9,10] 본 실험에서는 기존에 마우스에서 면역증강성이 확인된 임뮤포르테 및 DIR-vita, DIR-vitamineral 를 함유한 사료를 급여한 돼지에서의 생체 면역증진 여부를 확인하고자 세포성 면역의 증강여부를 확인할수 있는 인자로서 IFN-r, TNF-a 를 실험에 적용하였으며, 체액성 면역의 증강여부를 확인할 수 있는 인자로서 IgG, IgM, Total Ig 를 실험에 적용하여 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

Materials

실험물질인 ㈜코코엔터프라이즈에서 5가지 투여군을 두어 실험동물에 투여를 하였으며, 5가지 군에는 Immuforte-a, DIR-vita 0.1%, DIR-vita 0.2%, DIR-vitamineral 0.1%, DIR-vitamineral 0.2%를 두었다. 각각의 군에는 3-4마리의 돼지를 두어 물질을 처치 하였다. 총 투여 기간은 4주간과 3개월간을 두어서 물질을 매일 투여하였다.

Animals

실험에 사용한 돼지는 YLD로서 요크셔, 랜드레이스, 듀록 3종이 섞인 종이며, 투여일령은 21일령에 입식해서 22일령부터 사료첨가제 샘플시료를 급여하였으며

실험은 21일령부터 4주간, 3개월간 투여하였다.

Methods

가. Sandwitch ELISA법에 의한 면역사이토카인 및 면역글로블린의 측정

실험에 이용한 면역사이토카인의 인자로는 IFN-r, TNF-a, IgG, IgM, Total Ig 를 대상으로 실시하였다. 세포성 면역의 증강여부를 확인할수 있는 인자로서 IFN-r, TNF-a 를 실험에 적용하였으며, 체액성 면역의 증강여부를 확인할 수 있는 인자로서 IgG, IgM, Total Ig 를 실험에 적용하였다.

필요한 수만큼의 plate를 홀더에 셋팅한 후, 희석검체, 각 농도의 돼지 cytokine 표준액, 검체 희석액을 각각 plate에 100 ul씩 주입한다. 그 후, 실온에서 30분간 방치한다. 세정액을 각 plate에 300 ul씩 5회 주입, 마지막에는 완전히 제거한다. 돼지cytokine효소항체액 100ul를 각 well에 주입한다. 실온에서 30분간 방치한 다음 세정액을 각 plate에 300 ul씩 5회 주입하고 마지막에는 완전히 제거한다. 발색액 200 ul를 각 well에 주입한 후, 실온에서 15분간 방치한 다음, 반응정지액 50 ul를 각 well에 주입한다. ELISA reader기에서 450 nm로 흡광도를 측정한다.

나. 혈액 분석

실험에 사용되어지는 돼지가 정상적인 건강을 유지하고 있는지를 파악하기 위해서 받아온 시료를 혈액분석한다.

Statistical analysis

대조군을 비롯한 임뮤포르테알파, DIR-vita, DIR-vitamineral 간의 평균치 유의성을 검정하기 위하여 분석치에 대하여 Microcal Origin 6.0(Microcal Software, Inc., USA)을 사용하여 ANOVA test를 실시하였으며, 동일시험기간에서의 대조군과 시험물질 처리군들의 비교를 위하여 Student's t-test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

결 과

혈액 분석 결과

혈액 분석결과 4주령의 대조군 과 3개월령의 대조군 (1-1, 1-2, 1-3)과 비교하여 실험물질을 첨가한 실험군의 모든 인자들에서 어떠한 유의성도 발견하기 힘들었으며, 이상의 결과에서 본 실험의 목적인 면역 증강에 있어서의 결과가 건강한 개체에서 나오는 실험 결과임을 확인할 수 있었다.

세포성면역에 대한 면역증강성 실험 결과

a. IFN-r 의 결과

IFN-r에 대한 4주령 및 3개월령에서의 농도를 측정한 결과 4주령에서는 대조군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내는 군은 DIR-vitamineral 0.2% 군이었으며, 다른 군에서는 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 3개월령에서는 대조군농도인 38.5와 비교하였을 때 임뮤포르테알파, DIR-vita 0.1%, DIR-vitamineral 0.2% 에서 유의적인 증가가 나타나는 것을 알 수 있었다.

Table 1. The changes of blood-chemistry in pig posttreatment of new nonspecific immunostimulators

	Group	Albumin (g/dL)	T. Bililubin (mg/dL)	T. Protein (g/dL)	Creatinine (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)	T. CHOL (mg/dL)	ALP (U/L)	Potassium (mmol/L)
3 month	Control	3.1	0.2	7.0	1.2	61	34	76	133	5.61
	IMF 0.2%	3.1	0.3	6.6	1.5	106	42	83	196	7.1
	DIR vita 0.1%	2.8	0.3	6.8	1.3	65	39	78	128	5.83
	DIR vita 0.2%	2.7	0.6	6.4	1.4	42	34	83	157	5.2
	DIR vitamine 0.1%	3.2	0.3	6.1	1.2	33	40	74	213	5.48
	DIR vitamine 0.2%	3.4	0.7	6.4	1.4	39	41	77	143	6.12
4weeks	IMF 0.2%	3.2	1.0	5.4	1.2	60	64	89	338	7.15
	DIR vita 0.2%	3.0	0.5	5.0	1.4	82	61	73	260	6.25
	DIR vitamine 0.1%	2.8	0.2	5.2	0.7	31	30	71	231	5.64
	DIR vita 0.1%	3.0	0.2	5.2	0.7	37	42	71	315	5.16
	DIR vitamine 0.2%	2.6	0.4	4.8	0.8	51	58	76	265	5.24
	Control	3.6	0.4	5.6	0.9	47	87	85	434	8.05

b. TNF-a 의 결과

TNF-a의 수치를 각각의 면역증강성 물질 투여 후 농도를 측정한 결과 4주령, 3개월령의 모든 실험군에서 유의적인 증가를 나타내는 군은 나타나지 않았으나 4주령의 DIR-vitamineral 0.1%, DIR-vitamineral 0.2% 에서 대조군과 비교하여 증가하는 경향을 나타내었다.

체액성 면역에 대한 면역증강성 실험 결과

IgG의 결과에서는 4주령에 비해 3개월령에서 대조군 및 면역증강성물질 투여군 모든 군에서 상승한 경향을 나타냈다. 그러나, 이러한 IgG의 상승이 대조군과 비교하였을 때 면역증강물질 투여군에서 통계학적으로 유의적인 증가가 관찰 되지 않았다. 한편, IgM과 total Ig의 경우에는 4주령 및 3개월령에서 농도의 변화가 거의 나타나지 않고 있는 것으로 나타났다.

고 찰

모든 생명체의 숙주 방어기전은 macrophage등의 항원전달 세포와 T 림파구를 중심으로 한 일련의 세포성 면역 반응과 B 림파구를 중심으로 하는 체액성 면역반응에 의하여 이루어 진다.[11,12] 돼지의 면역시스템도 사람이나 다른 동물과 유사하게 이루어져 있으나, 특히 T 림파구가 항원이나 병원체에 의하여 활성화되지 않은 상태에서도 높은 분포로 존재하고 있는 것이 특징이라고 할 수 있다. 이러한 돼지에서의 T 림파구는 memory cell의 특징적인 발현 marker인 CD29와 함께 나타나고 있으며 질병 감염시 주요 림프조직에 높게 나타나고 있어 숙주 면역 반응에 깊이 연관되어 있음을

Table 2. The changes of IFN-r in the blood of pigs posttreatment of new nonspecific immunostimulators

Group	4weeks(ng/ml)	3months(ng/ml)
Control	44	38.5
IMF 0.2%	31	52.2*
DIR-vita 0.1%	15	107*
DIR-vita 0.2%	27	12
DIR-vitamineral 0.1%	11	35
DIR-vitamineral 0.2%	54*	128*

*, Significantly different from control group ($p<0.05$).

Table 3. The changes of TNF-a in the blood of pigs posttreatment of new nonspecific immunostimulators

Group	4weeks(ng/ml)	3months(ng/ml)
Control	369	449
IMF 0.2%	342	362
DIR-vita 0.1%	351	453
DIR-vita 0.2%	292	371
DIR-vitamineral 0.1%	417	357
DIR-vitamineral 0.2%	378	447

*, Significantly different from control group ($p<0.05$).

Table 4. The changes of IgG in the blood of pigs posttreatment of new nonspecific immunostimulators

Group	4weeks(ng/ml)	3months(ng/ml)
Control	5.8	14.3
IMF 0.2%	6.2	15.4
DIR-vita 0.1%	5.9	16.8
DIR-vita 0.2%	6.3	16.1
DIR-vitamineral 0.1%	6.5	15.7
DIR-vitamineral 0.2%	6.3	16.2

*, Significantly different from control group ($p<0.05$).

Table 5. The changes of IgM in the blood of pigs posttreatment of new nonspecific immunostimulators

Group	4weeks(ng/ml)	3months(ng/ml)
Control	3.9	4.1
IMF 0.2%	3.8	3.9
DIR-vita 0.1%	4.1	4.0
DIR-vita 0.2%	4.0	3.9
DIR-vitamineral 0.1%	3.8	4.1
DIR-vitamineral 0.2%	4.2	3.9

*, Significantly different from control group ($p<0.05$).

Table 6. The changes of Total Ig in the blood of pigs posttreatment of new nonspecific immunostimulators

Group	4weeks(ng/ml)	3months(ng/ml)
Control	12.3	22.3
IMF 0.2%	12.1	25.2
DIR-vita 0.1%	12.8	26.1
DIR-vita 0.2%	13.9	22.4
DIR-vitamineral 0.1%	13.1	24.6
DIR-vitamineral 0.2%	12.9	23.8

*, Significantly different from control group ($p<0.05$).

시사하고 있다.[13]

숙주 면역 체계 중 면역반응의 중추적인 역할을 하는 림파구는 항원을 인식하는 표면구조에 따라 T 및 B 림파구로 나눌 수 있다. T 림파구는 T 세포 수용체(T cell receptor, TCR)를 가지며, TCR는 ab TCR와 gd TCR 두가지로 나눌 수 있으며 B 림파구는 세포표면 면역글로블린(cell surface immunoglobulin)이라는 항원을 가지고 있다.[14] 일반적으로 갓난돼지나 무균돼지에서는 매우 낮은 비율의 T 림파구가 존재하지만 이러한 비율은 나이가 들수록 증가하고 또한 항원 자극 시 증가하는 것으로 나타났다.[15]

본 연구에서는 이러한 돼지에서의 생체 면역방어기전에 있어서 중요한 역할을 하는 T 림파구와 B 림파구의 생체 활성화를 측정하기 위하여, 면역사이토카인의 인자로서 IFN-r, TNF-a, IgG, IgM, Total Ig 를 대상으로 실시하였다. 세포성 면역의 증강여부를 확인할 수 있는 인자로서 IFN-r, TNF-a 를 실험에 적용하였으며, 체액성 면역의 증강여부를 확인할 수 있는 인자로서 IgG, IgM, Total Ig 를 실험에 적용하였다. 또한, 면역기능 증강물질로 추정되는 신물질(임뮤포르테알파, DIR-vita, DIR-vitamineral)에 대하여 기간별로 4주 및 3개월간 돼지에게 급여하였을 때의 생체 내 면역활성화를 측정하였으며, 농도별로 DIR-vita 및 DIR-vitamineral 은 각각 0.1%와 0.2%로 나누어 농도에 따른 면역 활성화의 증강을 측정하였다.

그 결과 T 림파구의 활성화에 있어서 중요한 영향을 미치는 IFN-r의 경우 투여기간별 농도를 측정한 결과, 4주령에서는 대조군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내는 군은 DIR-vitamineral 0.2% 군이었으며, 다른 군에서는 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 3개월령에서는 대조군농도인 38.5와 비교하였을 때 임뮤포르테알파, DIR-vita 0.1%, DIR-vitamineral 0.2% 에서 유의적인 증가가 나타나는 것을 알 수 있었다. 한편, TNF-a의 결과에서는 4주령, 3개월령의 모든 실험군에서 유의적인 증가를 나타내는 군은 나타나지 않았으나 4주령의 DIR-vitamineral 0.1%, DIR-vitamineral 0.2% 에서 대조군과 비교하여 증가하는 경향을 나타내었다.

체액성 면역에 있어서는 측정한 IgG, IgM, Total Ig 모두에서 대조군과 비교하여 유의적인 변화를 나타내는 군은 관찰되지 않았다. 이러한 결과로부터 실험에 사용한 면역기능 증강물질들이 생체 내에서 면역방어기전을 세포성면역인 T 림파구와 관련하여 활성화되는 것을 알 수 있었으며, 실험에 사용된 물질 중 DIR-vitamineral 0.2%이 가장 효과적인 생체 내 면역기능 활성화를 나타내는 것으로 파악되었다. 실험에 사용된 물질 5가지의 생체내 면역기능활성화의 효과를 비교해 보면, 가장 효과적인 물질은 DIR-vitamineral 0.2%로 밝혀졌으며, 그 다음으로 DIR-vitamineral 0.1%, 임뮤포르테알파, DIR-vita 0.1% 순으로 효과적인 것으로 파악되었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 돼지에서 실험에 사용한 면역기능 신물질의 생체 면역증강 효과를 확인할 수 있었으며, 생산성 향상과 함께 세포성 면역증진에 따른 효과적인 질병방어기전 형성을 유도함이 인정되었다.

감사의 말씀

본 연구는 ㈜코코엔터프라이즈 및 2006년도 한국학술진흥재단으로부터 연구비를 지원 받았습니다 (KRF-005-E00076).

국문요약

돼지에게 실험물질을 투여후 4주령과 3개월령에서 뽑은 혈액에서의 면역 증강력을 측정하기 위하여 우선 선행되어야 할 건강한 개체여부를 판단하기 위하여 혈액분석을 실시하였다. 그 결과에서는 의뢰한 개체군에서 유의적인 차

이가 없었으며, 이 결과로부터 본 실험에서의 면역 증강 수치 결과가 질병에 의한 결과가 아닌 개체 자체의 면역 증강성이 높아져있음을 판단 할 수 있는 근거가 되었다. 생체에서의 면역성은 크게 세포성 면역과 체액성 면역으로 나눌 수 있는데 세포성 면역의 대표적인 사이토카인인 IFN-r를 측정한 결과, 4주령에서는 대조군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내는 군이 DIR-vitamineral 0.2% 군이었으며, 다른 군에서는 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 3개월령에서는 대조군농도인 38.5와 비교하였을 때 임뮤포르테알파, DIR-vita 0.1%, DIR-vitamineral 0.2% 에서 유의적인 증가가 나타나는 것을 알 수 있었다. 이상의 결과로부터 DIR-vitamineral 0.2%는 4주령 및 3개월령에서 고른 면역 증강력을 확인 할 수 있었으며, 임뮤포르테알파, DIR-vita 0.1%는 3개월령에서 증강성이 확인된 결과를 나타내는 것으로 미루어보아 시간이 경과하면서 면역증강성을 나타내는것으로 사료된다. 또한, DIR-vita 0.2%의 경우에는 오히려 3개월령에서 면역 증강성에 있어서 유의적인 효능이 확인되지 않는 결과가 나타난것으로 미루어 그 적정농도를DIR-vita 0.1%로 맞추는 것이 효과적일 것으로 판단된다. 한편, 체액성 면역에 있어서는 측정한 IgG, IgM, Total Ig 모두에서 대조군과 비교하여 유의적인 변화를 나타내는 군은 관찰되지 않았다. 이러한 결과로부터 실험에 사용한 면역기능 증강물질들이 생체 내에서 면역방어기전을 세포성면역인 T 림파구와 관련하여 활성화되는 것을 알 수 있었으며, 실험에 사용된 물질 중 DIR-vitamineral 0.2%이 가장 효과적인 생체 내 면역기능 활성화를 나타내는 것으로 파악되었다. 실험에 사용된 물질 5가지의 생체내 면역기능활성화의 효과를 비교해 보면, 가장 효과적인 물질은 DIR-vitamineral 0.2%로 밝혀졌으며, 그 다음으로 DIR-vitamineral 0.1%, 임뮤포르테알파, DIR-vita 0.1% 순으로 효과적인 것으로 파악되었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 돼지에서 실험에 사용한 면역기능 신물질의 생체 면역증강 효과를 확인할 수 있었으며, 생산성 향상과 함께 세포성 면역증진에 따른 효과적인 질병방어기전 형성을 유도함이 인정되었다.

참고문헌

1. Anadon, A., Martinez-Larranaga, M.R.: Residuesof antimicrobial drugs and feed additives in animal products; regulatory aspects. Livest. Prod. Sci., **59**, 183-198 (1999)
2. Pedersen, K.B., Aarestrup, F.M., Jensen, N.E., Bager, F., Jensen, L.B., Jorsal, S.E., Nielsen, T.K., Hansen, H.C., Meyling, A., Wegner, H.C.: The need for a veterinary antibiotic policy. Vet. Record. **145**, 50-53 (1999)
3. Bonneau, M. and Laarveld, B.: Biotechnology in animal nutrition, physiology and health. Livest.Prod. Sci. **59**, 223-241 (1999)
4. Berg, R.D.: Probiotics, prebiotics or conbiotics. Trends Microbiol. **6**, 89-92 (1998)
5. Terance, H., Alan, L., David, W.: New drug targets in inflammation and immunomodulation. DDT. **3**, 516-521 (1998)
6. Dunier, M., Vergnet, C., Siwicki, A.K., Verlhac, V.: Effect of lindane exposure on rainbow trout immunity. IV. Prevention of nonspecific and specific immunosuppression by dietary vitamin C. Ecotoxicol. Environ. Saf. **30**, 259-268 (1995)
7. Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Dixon, O.W.: Comparisons of nonspecific and specific immunomodulation by oxolinic acid, oxytetracycline and levamisole in salmonids. Vet. Immunol. Immunopathol. **23**, 195-200 (1989)
8. Siwicki, A.K., Klein, P., Morand, M., Kiczka, W., Studnicka, M.: Immunostimulatory effects of dimerized lysozyme (KLP-602) on the nonspecific defense mechanisms and protection against furunculosis in salmonids. Vet. Immunol. Immunopathol. **61**, 369-378 (1998)
9. Jung JY, Ahn NS, Park JS, Jo EH, Hwang JW, Lee SH, Park JR, Kim SJ, Lee YG, Jeong YH, Chung JH, Lee SJ, Lee SB, Goo YS, Kang KS, and Lee YS: Immunostimulatory Effects of Immu-Forte at 3 Months Post-Treatment in Mice. J. Fd Hyg. Safety. **20**, 118-122 (2005)
10. Jung JY: Changes of immunostimulatory effects by Immu-Forte on mice. Korean J. Vet. Res. **45**, 501-506 (2005)
11. Dutton, R.W., Bradley, L.M., Swain, S.L.: T cell memory. Annu. Rev. Immunol. **16**, 201-223 (1998)
12. Gonser, S., Weber, E., Folkers, G.: Peptides and polypeptides as modulators of the immune response: thymopentin-an example with unknown mode of action. Pharmaceutica Acta Helvetiae. **73**, 265-273 (1999)
13. Zuckermann, F.A. and Husmann, R.J.: Functional and Phenotypic analysis of porcine peripheral blood CD4/CD8 double-positive T cells. Immunology. **87**, 500-512 (1996)
14. Lunn, D.P.: A comparative review of human and equine leukocyte differentiation antigens. Br. Vet. J. **149**, 31-49 (1993)
15. Pescovitz, M.D., Sakopoulos, A.G., Gaddy, J.A., Husmann, R.J., Zuckermann, F.A. : Porcine peripheral blood CD4/CD8 dual expressing T-cells. Vet. Immunol. Immunopathol. **43**, 53-62 (1994)