

Parathion, Chloroform 및 2,6-Dichlorophenol의 중독에 의한 흰쥐의 혈액학적 소견과 면양적혈구에 대한 항체 생산세포수에 미치는 영향

鄭 勇·崔 秉 哲

延世大學校 保健大學院

(Received August 10, 1982)

Yong Chung and Byung Chull Choi

*The Graduate School of Health Science and Management, Yonsei
University, Seoul 120, Korea*

A Study on Immune Response by Intoxication of Parathion, Chloroform and 2,6-Dichlorophenol in Rats

Abstract—Among the environmental pollutants, parathion, chloroform and 2,6-dichlorophenol may impair human health; they may inhibit or reduce the metabolic function of human body and may furthermore cause diseases directly or indirectly. This study was undertaken to investigate the effects on the immune response by intoxication of parathion, chloroform or 2,6-dichlorophenol. Parathion(1.3mg/kg, olive oil 10ml), chloroform (100mg/kg, olive oil 10ml) were administered via intraperitoneal injection to rats. And 2,6-dichlorophenol (13mg/kg, olive oil 10ml) was administered via oral injection. After 3 weeks, the rats were intoxicated with the above chemicals and immunized with sheep RBC.

After 4 weeks the immune response of rat spleen cells was measured by the Jerne's technique.

The results were obtained as follows. 1. There was no change of leukocyte counts by the intoxication of parathion, chloroform and 2,6-dichlorophenol. 2. Parathion, chloroform and 2,6-dichlorophenol reduced hemoglobin contents for most intoxicated and immunized groups. 3. Hematocrits were decreased by the intoxication of parathion, chloroform or 2,6-dichlorophenol significantly. 4. It was determined that total protein, A/G (albumin/globulin), α -, β -and γ -globulins in rat serum were not changed. 5. Intoxication by parathion, chloroform or 2,6-dichlorophenol reduced the number of hemolytic plaque to the sheep RBC in rat spleen cells. Therefore, the capacity of erythrocyte production and the immune response of rat spleen cells were decreased by the intoxication of parathion, chloroform, or 2,6-dichlorophenol.

우리 인간은 풍요로운 삶을 영위하기 위하여 여러 화학물질들을 끊임없이 개발하고 또 사용하고 있으나 그 화학물질의 남용과 오용으로 많은 독작용이 발생되어 인간, 가축, 식물, 수자원 등에 큰 피해를 끼치고 있다.

특히 농약은 2차 세계대전 이후 여러가지 농약이 합성되어 널리 사용됨으로써 농작물에 피해를 주는 병해충을 없애게 되어 농산물의 수확을 높이는데 성공하였다.

그러나 이런농약의 대량 사용으로 병해충이 농약에 대한 내성이 강해지고 있어 점점 독성이 강

한 농약의 생산을 촉진시키고 있는 실정이다. 농약중 parathion은 1944년 독일에서 처음 개발하여 사용하게 되었으며 그후 1948년에 parathion에 의한 중독현상이 발생되었다.¹⁾

Parathion의 급성중독은 인체내에서 paraoxin으로 변화한 후 acetylcholinesterase를 강하게 억제하여 muscarin樣 또는 nicotine樣 중추신경억제작용을 초래한다.^{2,3)}

Parathion의 만성중독으로 신경중독 증상을 초래하여 장기간 흡수하면 중추신경에 장애를 주어 심한허탈, 악몽, 기억력상실, 두통, 신경과민 등을 일으키며 환각증세를 포함한 정신분열증세, 구토, 오심, 근육경련, 현기증 등을 일으킨다.^{4,5)}

또한 흰쥐에 parathion을 투여하면 태반과 태자의 무게가 대조군보다 현저히 낮았으며 태자 사망까지 초래한다.^{6,7)}

그리고 유기인제제 농약은 급, 만성중독시 백혈구의 활동이 감소되었고 총단백질량을 감소시키며 폴리백신에 대해 항체역가가 감소되는 결과를 얻었다고 보고 하였다.⁸⁾

한편 농약의 사용량증가, 공장폐수 및 분뇨의 방류 등으로 인하여 수질오염의 증가를 가져오며 그 결과 상수원의 오염도 증가시킨다. 상수도중 병원성 세균의 살균과 병원체의 재침입을 막기위하여 염소소독을 실시하는데 이때 각종 유독성 염소화합물을 형성시킨다.⁹⁻¹³⁾

Elliot, D.S(1976)등은 생쥐에 염소소독된 수도수를 투여한 실험군에서 같은물을 수지로 불순물을 제거하고 투여한 대조군보다 출산율이 낮았으며 사산과 미숙아가 많았었다고 조사보고하고 있다. 그 원인물질로 오염된 미량의 중금속 화합물 및 잔류농약, 염소소독후 생성된 수종의 염소화합물 등을 추정하였다.¹⁴⁾

그중 chloroform을 다량 흡입한 경우 일차적으로 급성 酩酊(inebriation), 무감각증, 혼수를 수반한 중추신경 저해를 초래 고혈압, 호흡기와 심장의 기능저하, 사망까지 가져오며 지방간, 간중심편 소엽의 피사를 초래 간독성을 가져온다.¹⁵⁾

또한 신장에서 최초로 중앙부 소엽에 손상을 주어 피사를 초래하며 낮은 용량에서 다뇨, 당뇨, 단백뇨를 가져오며 높은용량에서는 배뇨곤란, 신장의 완전손상을 가져온다고 하였다.¹⁶⁾

Chloroform을 생쥐에 소량씩 오랜시간 투여시 발암작용이 있다고 하며 또한 기형아를 출산한다고도 한다.¹⁷⁾

Chloroform등 각종 유기용제에 장기간 노출된 환자에서는 혈장면역글로부린수준의 차이가 있고 IgA, IgG에 대한 적응성이 떨어 진다고 하였다.¹⁸⁾

Chlorophenol도 또한 오염된 잔류성 농약 및 polychlorinated biphenyl(PCB) 등에서 유래하나 분뇨 등의 배출하수, 공장폐수의 phenol 화합물의 염소소독에 의해서도 생성되며 염소소독한 폐수처리장의 방류수 및 하천수에서도 발견된다.

Chlorophenol의 급성독성으로 체중감소, 보행실조, 설사, 혈누출, 점진적 탈수, 중추신경 억제로 사망까지 가져오며 아급성독성으로 간장의 비대와 간장의 porphyria증을 일으킨다고 한다.¹⁹⁾

만성독성으로 간세포에 특이한 병변을 일으킨다.^{20,21)} Mistsuda, H등 (1963)은 각종 chlorophenol화합물을 쥐의 간세포 mitochondria에서 산화인산반응을 저해한다고 보고하였다.²²⁾ 최근 정(1978)의 연구결과 보고에 의하면 흰쥐에 있어 chlorophenol의 독성은 혈액중 hemoglobin 및 hematocrit과 혈청중 albumin/globulin(A/G)를 저하시키며 간세포 mitochondria의 호흡을 억제하고 microsomal cytochrome p-450를 감소시킨다고 한다.²³⁾ 그리고 간장의 조직, 형태학적 변화를 관찰한 결과 원형질내에서 rough endoplasmic reticulum의 확장과 자유형 ribosome이 증가되고 mitochondria의 부종 및 변성을 보였으며 공포가 생기고 핵막에 위축현상을 나타내며 골수세포

염색체에도 영향을 주어 이상염색체의 출현, 증기 분열상의 증지현상을 보였다고 한다. 또한 염소계화합물중 polychlorinated biphenyl에 의한 면역학적억제에 관한 연구보고는 다수 있으며 그 보고에 의하면 기니피에 polychlorinated biphenyl 10ppm을 투여한 경우 항체생성세포의 수가 감소되고 파상풍독신 혹은 광견병백신에 대한 혈청항체역가가 감소되었다고 한다.²⁴⁾ 이어 Vos, J. G 등(1972)은 polychlorinated biphenyl 50ppm을 투여한 경우 체액과 세포에서 모두 면역학적인 억제작용이 있다고 발표하였다.²⁵⁾

이상과 같이 parathion, chloroform 및 2,6-dichlorophenol 독성에 관한 연구는 여러방면에서 실시되었으나 면역학적인 연구는 많지않은 실정이다. 그러므로 저자는 이상의 독성물질의 중독에 따른 면역반응을 연구하기 위하여 Jerne technique을 이용한 용혈플라크수를 측정하였고 또한 혈액학적인 조사를 실시하여 몇가지 결론을 얻었기에 이에 보고한다.

實驗方法

實驗材料—Chloroform(특급, Shinyo Pure Chemical Co., Japan) parathion(시판 47%, 제일농 약제), chlorophenol(특급, 2,6-dichlorophenol, 東京化成工業製, 日本)

實驗動物 및 實驗群—체중 150~200g의 건강한 암, 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley strain)를 사용하였으며, 실험전에 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 동일조건으로 동물실에서 1주일 적응시켰다. 실험동물의 실험기간 및 사용한 흰쥐의 수는 Table I과 같다.

Table I—Characteristics of experimental group.

Group	Number of rats	Experimental day		
		7*	14*	28**
I. Control	18	6	6	6
Parathion	18	6	6	6
Chloroform	18	6	6	6
II. Control	18	6	6	6
2,6-Dichlorophenol	18	6	6	9

I; Female rats II; Male rats

*; Groups administered with chemicals

**; Groups administered with chemicals and sheep RBC

中毒方法—실험 첫날 LD₅₀의 1/10에 해당하는 parathion 1.3mg/kg, chloroform 100mg/kg을 복강내 투여하였고 2,6-dichlorophenol 13mg/kg은 경구 투여하였다. 그리고 21일째 동량을 동법으로 재투여 하였으며 이때 각 독성물질은 olive유에 용해시켜 사용하였다.

免疫方法—각기 독성물질을 21일째 투여한 후 민양적혈구부유액 0.5ml을 복강내 2일간격으로 3회 투여하였다. 이때 민양적혈구부유액은 민양정동맥에서 혈액을 채취하여 항응고제 2.8% sod. citrate로 처리한 시험관에 넣고 원침하여 적혈구수가 1ml당 8×10^8 이 되도록 생리 식염수로 희석하여 사용하였다.

血液成分 및 免疫性 測定—혈액성분 측정을 위하여 혈액을 심장부동맥에서 각기 실험일(7일, 14일, 28일)에 채취하였으며 면역성 조사를 위하여 민양적혈구로 면역시킨 후 비장을 적출하였다.

1) 백혈구수 : WBC pipet으로 혈액을 희석하여 counting chamber에 적하한 후 현미경으로 측정하였다.

2) Hematocrit : Capillary method에 따라 전혈액에 대한 plasma cell의 백분율로 측정하였다.

3) Hemoglobin량 : Cyanmethemoglobin method에 따라 혈액중 총 hemoglobin량을 Drabkin's 용액에 의한 흡광도로 측정하였다.

4) A/G(albumin/globulin) 및 α -, β -, γ -globulin: Biuret method에 따라 총단백량을 albustrate 시약에 의해 albumin량을 측정하였고 총단백량에서 albumin량을 빼어 globulin량을 측정하였다. 또한 Seprapore III cellulose strip(Gelman Instrument Co.)을 사용한 전기영동법으로 단백질을 분리 전개한 후 Ponseu red S로 염색하고 densitometer로 각각 분리된 α -, β -, γ -globulin량을 측정하였다.

5) 용혈 플라크수의 측정 : Jerne Technique²⁶⁾에 따라 면역된 흰쥐의 비장세포부유액에 대한 면양적혈구의 용혈반응 정도로 항체생산세포수 즉 용혈플라크수를 측정하였다.

實驗結果 및 考察

白血球數의 變化—백혈구수를 각각 측정된 결과 Table II와 같은 성적을 얻었다.

Table II—Alteration of the leukocyte number in rat blood intoxicated with parathion, chloroform, or 2,6-dichlorophenol. (unit: number/dl)

Group	(A) Intoxicated	(B) Intoxicated and immunized
I. Control	12,100±3,708	13,240±2,254
Parathion	10,933±3,307	10,663± 972
Chloroform	11,300±3,979	10,325±2,882
II. Control	13,150±2,023	14,133±3,971
2,6-Dichlorophenol	11,950±2,977	10,558±1,262

I : Female rats II : Male rats

(A) Intoxicated after 1 week administered with parathion, chloroform or 2,6-dichlorophenol.

(B) Intoxicated with chemicals and immunized with sheep RBC.

즉 parathion, chloroform 및 2,6-dichlorophenol을 투여한 실험군에서 대조군과 실험군 사이에 백혈구수의 유의한 차이가 없었고, parathion, chloroform 및 2,6-dichlorophenol을 투여한 후 면양적혈구를 투여한 실험에서도 유의한 차이가 없었다.

본 실험결과 parathion, chloroform 및 2,6-dichlorophenol에 중독시 백혈구수에는 별 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

Hemoglobin 및 Hematocrit의 變化—각 실험군에 있어 hemoglobin량을 측정된 결과 Table III과 같았다.

즉 parathion과 chloroform을 투여한 실험군에서는 대조군은 15.5±0.53(mg/dl), parathion 투여군은 13.9±0.72(mg/dl), chloroform 투여군은 13.9±0.53(mg/dl)으로 대조군에 비해 hemoglobin량이 감소했고, 2,6-dichlorophenol 투여한 군에서는 유의한 차이가 없었다. Parathion, chloroform을 투여한 후 면양적혈구를 투여한 실험군에서는 대조군은 15.2±0.49(mg/dl), parathion

Table III—Alteration of hemoglobin in rat blood intoxicated with parathion, chloroform, or 2,6-dichlorophenol. (unit: mg/dl)

Group	(A) Intoxicated	(B) Intoxicated and immunized
I. Control	15.5±0.53	15.2±0.49
Parathion	13.9±0.72*	12.7±0.62*
Chloroform	13.9±0.53*	13.2±0.75*
II. Control	15.3±0.51	15.2±0.63
2,6-Dichlorophenol	14.7±0.46	14.2±0.30*

* : P<0.05

투여군은 12.7±0.62(mg/dl), chloroform 투여군은 13.2±0.75(mg/dl)로 대조군에 비해 감소했으며 2,6-dichlorophenol을 투여한 후 면양적혈구를 투여한 실험군에서도 대조군은 15.2±0.63(mg/dl), 실험군은 14.2±0.30(mg/dl)으로 대조군에 비해 감소했다(P<0.05).

또한 hematocrit를 측정 한 결과는 Table IV와 같다.

Table IV—Alteration of hematocrit in rat blood intoxicated with parathion, chloroform, or 2,6-dichlorophenol. (unit: %)

Group	(A) Intoxicated	(B) Intoxicated and immunized
I. Control	58.9±5.03	56.8±3.56
Parathion	48.6±5.20*	44.2±2.39*
Chloroform	46.7±4.71*	44.9±4.52*
II. Control	58.2±5.03	56.2±2.58
2,6-Dichlorophenol	53.2±2.77	48.1±1.50*

I : Female rats

II : Male rats

* : P<0.05

(A) : Intoxicated after 1 week administered with parathion, chloroform, and 2,6-dichlorophenol.

(B) : Intoxicated with chemicals and immunized with sheep RBC.

즉 parathion, chloroform을 투여한 실험군에서 대조군은 58.9±5.03(%), parathion 투여군 48.6±5.20(%), chloroform투여군은 49.7±4.71(%)로서 대조군에 비해 실험군이 hematocrit가 감소했으며 2,6-dichlorophenol을 투여한 실험군에서는 대조군과 실험군 사이에 유의한 차이가 없었다. parathion, chloroform을 투여한 후 면양적혈구를 투여한 실험군에서는 대조군은 56.8±3.56(%), parathion투여군은 44.2±2.39(%), chloroform투여군은 44.9±4.52(%)로 대조군에 비해 감소하였으며 2,6-dichlorophenol을 투여한 후 면양적혈구를 투여한 실험군에서도 대조군은 56.2±2.58(%), 2,6-dichlorophenol투여군은 48.1±1.50(%)로 모두 대조군보다 hematocrit가 감소하였다(P<0.05).

본 실험에서 hemoglobin, hematocrit가 독성물질에 의해 중독시 대체로 감소하는 현상을 보였다. 이는 혈액소 형성이 저하되는 것인지 적혈구 생성수가 저하되는 것인지는 알 수 없으나 hematocrit가 저하된 것을 보면 후자의 경우인 듯하다. 그중 정(1978)은 흰쥐에 있어 2,6-dichlorophenol의 중독은 혈액중 hemoglobin과 hematocrit를 저하시킨다고 보고하였는데²³⁾ 이 보고는 본

연구 결과와 일치하고 있다.

血清 蛋白 成分 變化—흰쥐에 독성물질을 투여한 후 1주, 2주째 총단백, albumin, α -globulin, β -globulin, γ -globulin, A/G(Albumin/Globulin)는 Table V와 같은 결과를 얻었다.

Table V—Protein components of rat serum intoxicated with parathion, chloroform or 2,6-dichlorophenol. (unit: mg/dl)

Exp. group	Component Days	Total Protein (mg/dl)		Albumin (mg/dl)		α -Globulin (mg/dl)		β -Globulin (mg/dl)		γ -Globulin (mg/dl)		A/G (Albumin/Globulin)	
		7	14	7	14	7	14	7	14	7	14	7	14
		Control	6.60	6.89	2.93	2.85	1.19	1.30	1.14	1.20	1.34	1.54	1.00
Parathion	6.50	6.51	2.97	2.58	1.43	1.50	0.72	0.97	1.38	1.46	1.41	0.96	
Chloroform	7.50	6.70	3.80	2.81	1.80	1.65	0.90	0.91	1.00	1.33	1.27	1.22	
2,6-Dichlorophenol	5.99	7.70	2.63	3.49	1.21	1.74	1.05	0.95	1.10	1.52	0.91	1.20	

즉 대조군 및 실험군의 총단백, albumin, α -globulin, β -globulin, γ -globulin, A/G(Albumin/Globulin)는 1주 2주째 대체로 차이가 없었다.

脾臟細胞의 綿羊赤血球에 對한 溶血 Plaque數의 變化—Parathion, chloroform, 2,6-dichlorophenol에 중독된 흰쥐에 면양적혈구를 투여하여 면역시킨후 비장세포를 적출한 부유액에 면양적혈구를 함께 혼합하고 여기에 기니픽혈청을 보체로 첨가하여 비장세포의 플라그형성수를 측정할 결과 Table VI과 같다.

Table VI—Immune plaque count of rat spleen cell intoxicated with parathion, chloroform or 2,6-dichlorophenol. (unit: number/0.5ml of rat spleen cell)

Group	Immune plaque count
I. Control	144±23
Parathion	87±8*
Chloroform	98±25*
II. Control	127±14
2,6-Dichlorophenol	102±12*

I: Female rats II: Male rats *: P<0.05

중독시 항체생성세포수를 감소시키고 파상풍독신 또는 광견병백신에 대한 혈청항체역가가 감소된다는 보고도 있다^{24,25)}.

본 연구에서 보면 parathion, chloroform, 2,6-dichlorophenol을 투여한 군은 모두 대조군보다 면역된 비장세포의 면역적혈구에 대한 용혈플라그수가 적었는데 이는 독성물질들이 면역능력에 대하여 억제작용을 한다고 볼 수 있다. 이러한 면역능력의 감퇴는 어떠한 면역기전에 의한 것인지 더욱 연구조사 되어야 할 것이다.

유기용제에 장시간 노출된 환자에 있어서 혈장면역 globulin수준이 떨어진다¹⁸⁾는 보고가 있으

즉 parathion과 chloroform을 투여한 군에서 대조군은 114±23개/0.5ml (비장세포부유액), parathion투여군은 87±8개 chloroform투여군은 98±25개로서, 용혈플라그수가 대조군보다 적었다. 그리고 2,6-dichlorophenol를 투여한 군에서도 대조군은 127±14개 실험군 102±12개로 대조군에 비해 용혈플라그수가 적었다 (P<0.05).

문헌상 독성물질의 면역학적영향에 관한 연구를 보면, 유기인제제 농약의 중독시 폴리백신에 대한 항체가 감소된다는 보고가 있다.⁸⁾ 또 한 염소계화물중 polychlorinated biphenyl에 의한

나 본 실험에서 globulin의 감소는 인정할 수 없었다. 이와 관련하여 앞으로 독성물질의 투여용량, 투여기간, 투여방법 등에 따라 globulin수준은 더욱 연구되어야 한다.

환경오염이 심한 지역에서 어떤 질병이 특히 잘 발생한다던지 또는 질병의 병발이 있을수 있다는 가정은 매우 흥미로운 일이며 본 연구는 이러한 문제중 일부분의 가능성을 관찰한것에 불과한 것이다. 환경오염물질중 대부분은 인체에 직접적 독작용을 주나 그중 일부는 직접적 독작용보다 간접적으로 면역능력에 영향을 주어 질병에 대한 내성을 감소시킬 수 있으며 또한 그 자체는 인체에 독작용을 나타내지 않으나 다른 물질의 독작용을 상승시켜주거나 다른 물질과 결합하여 독작용을 나타낼 수도 있다. 따라서 오염물질 자체의 독작용에 대한 연구 뿐만 아니라 간접적인 여러가지 작용에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

結 論

Parathion, chloroform, 2,6-dichlorophenol의 자기 LD₅₀의 1/10에 해당하는 양을 2회(첫주 및 3주)로 흰쥐에 증독시 혈액학적 변화와 비장세포부유액의 면역적혈구에 대한 용혈플라그 형성을 측정하여 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 백혈구 수에는 별영향을 주지 않았다. 2. 혈액중의 hemoglobin과 hematocrit는 대체로 감소되었다. 3. 혈청단백종 총단백, α -, β -, γ -globulin 및 A/G의 변화는 보이지 않았다. 4. 흰쥐 비장세포에 있어 면역적혈구에 대한 면역용혈플라그수는 감소현상을 보였다.

이상의 실험결과로 보아 parathion, chloroform 및 2,6-dichlorophenol에 의해 증독되면 적혈구 생성수가 감소되며 면역능력에 감퇴를 가져올 것으로 사료된다.

文 獻

1. D. Grob, *et al.*, *Ann. Intern. Med.* 31, 899 (1949).
2. G.B., Koelle, *J. Pharmacol., Exp. Ther.*, 100, 158 (1950).
3. S.D, Murphy, *et al.*, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 12, 22 (1968).
4. L.F, Dauhnon, *et al.*, *Can. Med. Assoc. J.*, 92, 597 (1965).
5. W.F, Durham, *et al.*, *Arch. Environ. Health*, 10, 55 (1965).
6. R.D. Harbison, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 32, 482 (1975).
7. R.D. Kimbrough, *et al.*, *Arch. Environ. Health*, 16, 805 (1968).
8. J.C. Street, *et al.*, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 32, 587 (1975).
9. J.D. Mackinney *Identification and analysis of organic pollutants in water.* pp.417-432 (1976) Ann. Arbor Science.
10. A.W. Garrison, *Ibid* pp. 517-585 (1976).
11. H.W. Graze *Ibid* pp.247-254 (1976).
12. L.H. Keith, *Identification and analysis pollutants in water.* pp.329-373(1976). Ann. Arbor Science.
13. Keopter, *Ibid* pp.399-416 (1976).
14. D.S. Elliot, *iddetification and analysis of organic pollutants in water.* pp.329-373 (1976).
15. B.R. Brown, *et al.*, *Anesthesiology*, 41, 554 (1974).
16. W.M. Watrous, *et al.*, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 21, 528 (1972).
17. E.K. Weisbruger, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 18, 395 (1978).
18. A.R. Lange, *et al.*, *Int. Arch. Arbeitsmed.* 31, 37 (1973).
19. J.G. Vos. *et al.*, *Food Cosmet Toxicology*, 8, 625 (1970).
20. R.D. Kimbrough, *et al.*, *Arch. Environ. Health*, 25, 354 (1972).
21. R.D. Kimbrough, *et al.*, *Arch. Environ. Health*, 27, 390 (1973).

22. H. Mitsuda, *Agri. Biol. Chem.*, **27**, 366 (1963).
23. Y. Chung, *Yakhak Hoeji*, **22**, 175 (1978).
24. J.G. VOS, *et al.*, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **21**, 549 (1972).
25. J.G. VOS, *Sci. Total Environ.*, **1**, 289 (1975).
26. N.K. Jerne, *Science*, **140**, 405(1975).