

Methidathion이 체액성 면역 반응에 미치는 영향

정혜주* · 김형수 · 박재현 · 박현애 · 김진호 · 정승태 · 한형미 · 조대현 · 김주일
식품의약품안전청, 국립독성연구소 독성부

Effects of Methidathion on Humoral Immune Response in Mice

Hye Joo Chung*, Hyung Soo Kim, Jae Hyun Park, Hyen-Ae Park, Jin Ho Kim,
Seung Tae Chung, Hyung-Mee Han, Dae Hyun Cho and Jooil Kim

Department of Toxicology, National Institute of Toxicological Research, Korea Food and
Drug Administration, 5 Nokbun-Dong, Eunpyung-Ku, Seoul, 122-704, Korea

(Received November 21, 1998)

(Accepted January 27, 1999)

ABSTRACT : The effects of methidathion on humoral immune response were studied in BALB/c mice. 0.5 or 5.0 mg/kg/day methidathion were administered orally for 14 days. The parameters examined to assess apparent toxicity of methidathion included changes of body weight, relative weight of spleen, thymus, kidney and liver, and viable splenic cell numbers. To evaluate the humoral immune response, the plaque forming cell (PFC) responses to sheep red blood cells (SRBC) and the levels of serum IgG to hen egg lysozyme (HEL) were determined. No alterations were observed in changes of body weights, relative organ weights and the numbers of viable splenocytes by exposure to any dose of methidathion. At the dose of 0.5 mg/kg only PFC response was decreased, whereas both PFC response and the level of serum IgG were decreased significantly at the dose of 5.0 mg/kg. These results indicate that exposure to methidathion may cause suppression of humoral immune response in mice without overt changes in lymphoid organ weight or viability of splenocytes.

Key Words : Methidathion, Pesticide, PFC, SRBC, IgG, Humoral immune response

I. 서 론

농산물의 수확량 증가 및 상품성 향상을 목적으로 해충 구제 또는 제초에 쓰이는 농약은 최근 그 사용량 증가로 인한 환경오염과 인체에 미치는 위해성이 사회 문제로 대두되고 있다(Thomas, 1995; Vial 등, 1996). 유기인계 농약은 분해가 어렵고 지용성이어서 지방조직에 축적되는 유기염소계 농약에 비해 생분해가 쉽고 특이적으로 작용하기 때문에 광범위하게 사용되고 있으나 물질을 알킬화하는 성질이 있어 발암원 또는 변이원으로 작용할 수 있는데(Chen 등, 1981), 1990년에 Quest 등은 유기인계 농약에 의한 미생물의 변이를 보고한 바 있다. 유기인계 농약이 체내로 흡수되면 acetylcholinesterase 활성을 저해하여 근신경 접합부에 acetylcholine이 축적됨으로써 살충 작용 및 독성 증상을 나타내게 되고 포유동물에서는 carboxyesterase 및

phosphatase에 의해 탈에스테르화 되어 비독성물질로 대사된다(Mallipudi 등, 1980; Umetsu 등, 1981; Gallo와 Lawryk, 1991).

오렌지, 자두, 담배 등 농산물의 해충 구제에 쓰이는 methidathion은 WHO 및 EPA의 독성 분류에 따르면 중등도 이상의 독성을 나타내는 유기인계 살충제로(Carman 등, 1981; Gaines와 Linder, 1986), 사람에서의 1일 허용 섭취량은 0.004 mg/kg으로 규정되고 있다(Tomlin, 1994). 개에서 실시한 만성독성 시험 결과 methidathion은 간담즙성 기능장애를 유발하며 적혈구의 cholinesterase를 저해하는 것으로 밝혀졌다(Chang 등, 1992). 한편 대표적 유기인계 농약인 malathion, parathion, dichlorvos은 실험동물에서 비만세포의 탈과립화(Rodgers와 Ellefson, 1992) 또는 체액성 면역반응의 저하를 야기시키거나(Casale 등, 1983; Rodgers 등, 1986) 임상적으로도 종양 및 골수암 발생빈도 증가(Blair 등, 1983), 혈중 항체가 변화(Kashyap, 1986) 등 이상 면역반응을 초래할 수 있음이 보고되었다.

*To whom correspondence should be addressed

이와 관련하여 본 연구에서는 마우스에 methidathion을 14일간 투여하고 체중 변화율, 비장, 흉선을 포함한 장기무게의 변화 및 특정 항원에 대한 항체 생산능 등을 측정·비교함으로써 methidathion이 체액성 면역 반응에 미치는 영향을 평가하였다.

III. 재료 및 방법

1. 시약

Methidathion은 Chem Service(West Chester, PA, U.S.A.)에서 구입하였고 corn oil, DEAE dextran, guinea pig complement, o-phenylenediamine, penicillin, streptomycin, N-(2-hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid)(HEPES), peroxidase conjugated goat anti-mouse IgG, phosphate buffered saline, 및 tween 20은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)에서, agar는 Difco Laboratories(Detroit, MI, U.S.A.), hen egg lysozyme은 Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Germany), RPMI 1640 media 및 normal goat serum은 Gibco Laboratories(Grand Island, NY, U.S.A.)에서 각각 구입하여 사용하였다. Sodium bicarbonate, sulfuric acid 등 그 외 사용된 모든 시약은 특급 이상의 제품을 이용하였다.

2. 실험동물

식품의약품안전청 국립독성연구소 실험동물자원실에서 생산한 5~6주령의 웅성 BALB/c 마우스를 분양받아 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 10\%$ 및 12시간 명암주기의 사육조건 하에서 약 2주간 순화시킨 후 실험에 사용하였으며, 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 순화 사육기간을 거친 건강한 동물을 선택하여 세균으로 분리하고 시험물질 투여군에는 methidathion을 corn oil(0.05 또는 0.5 mg/ml)에 녹여 0.5 또는 5.0 mg/kg 용량으로 1일 1회 14일간 각각 경구투여 하였으며, 대조군에는 corn oil를 0.2 ml씩 투여하였다.

3. 체중 및 장기 무게 측정

일반적 독성 지표로서 체중 변화율과 상대적 장기 무게를 구하기 위해 약물 투여전과 투여종료 24시간 후에 마우스 각각의 체중을 측정하였으며 체중변화율은 투여 개시전 체중에 대한 최종 체중의 백분율로 나타내었다. 약물 투여종료 24시간 후, 체중을 측정한다

음 마우스를 경추탈구시켜 희생시키고 간장 및 신장, 면역 관련 장기인 비장, 흉선의 무게를 측정하였으며 상대적 장기의 무게는 최종 체중에 대한 각각 장기 중량의 백분율로 나타내었다.

4. 비장세포액 조제

마우스를 경추탈구시켜 희생시키고 무균적으로 비장을 적출한 뒤 비장을 부드럽게 압착시켜 비장세포를 유출시킨 다음, 20 mM HEPES, penicillin(100 units/ml) 및 streptomycin(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)를 함유한 RPMI 1640 배지로 $200 \times \text{g}$ 에서 10분간 3회 세척하였다. RPMI 1640 배지로 비장세포를 현탁시키고 일정액을 취하여 trypan blue 용액과 혼합한 뒤 혈구계산판을 이용하여 살아있는 비장세포 수를 측정하였으며 비장당 총 살아있는 비장세포의 수를 환산하였다. 비장세포액은 1×10^6 cells/ml의 밀도로 희석하여 플라크 형성 세포 측정에 사용하였다.

5. 플라크 형성세포 측정

Methidathion이 특정 항원에 대한 플라크 형성 세포 생성에 미치는 영향을 측정하기 위해 약물 투여 11일째에 면양적혈구(SRBC; 5×10^8 cells/ml)를 마우스에 복강내 투여하여 면역시켰다.

약물투여 종료 1일 후, 즉 SRBC 투여 4일째에 마우스를 희생시켜 비장세포액을 얻었으며 DEAE dextran (30 mg/ml)을 함유하는 0.4% agar 배지를 만들고 배지의 온도는 항온수조에서 47°C 로 유지시켰다. 이 중 $350 \mu\text{l}$ 를 취하여 비장세포액 $100 \mu\text{l}$, 생리식염수로 3회 세척하여 얻은 SRBC $25 \mu\text{l}$ 및 guinea pig complement $25 \mu\text{l}$ 와 섞은 후 petri dish에 가하고 cover glass(24×40 mm)로 살짝 덮었다. 이때 기포 생성을 방지하고 배지가 고르게 퍼지도록 petri dish를 가볍게 두드린 다음 배지를 굳힌 후 뚜껑을 덮어 37°C 를 유지시킨 humidified 5% CO_2 배양기에서 3시간 배양하였다. 플라크는 SRBC에 대한 IgM이 *in vitro* 상에서 첨가한 SRBC와 반응하고 여기에 보체가 결합하면서 용혈반응이 일어나 형성되므로(Luster 등, 1988) 형성된 플라크 수를 현미경 하에서 세어 비장 및 1×10^6 비장세포 당으로 환산하여 표시하였으며 각각의 실험은 3회 시행하여 그 평균값을 구하였다.

6. 혈청 IgG 항체가 측정

Methidathion 투여에 따른 특정 항원 hen egg

lysozyme(HEL)에 대한 혈중 항체가 변화를 측정하기 위해 윤 등(1994)의 방법에 따라 약물 투여 1일 및 8일째에 마우스당 2 mg/0.1 ml의 HEL을 복강내 주사하여 감작시키고 감작 항원 HEL에 대한 IgG 항체를 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법을 이용하여 측정하였다(Francesco 등, 1992).

Methidathion 투여 종료 24시간 후 마우스를 에테르 마취하에 심장채혈하고 혈청을 분리하여 사용하였으며 HEL은 실험실시 1일전에 50 mM carbonate buffer (pH 9.6)를 이용하여 5 µg/ml 농도로 희석하여 밀이 평평한 96 well microplate(Costar Co., Cambridge, MA, U.S.A.)에 100 µl/well 씩 가하고 실온에서 하룻밤 방치하였다. 다음날 plate를 0.05% Tween 20이 함유된 인산 완충식염수(41.5 mM PBST, pH 7.4)로 3회 세척한 후 5%의 normal goat serum이 함유된 PBST를 200 µl/well 가하고 37°C에서 1시간 동안 방치하였다. PBST를 사용하여 각각의 혈청을 1 : 200 비율로 희석한 후 100 µl 씩 가하고 37°C에서 90분간 반응시켰다. Plate를 PBST로 3회 세척한 후 PBST로 1 : 1000의 비율로 희석한 peroxidase conjugated goat anti-mouse IgG를 100 µl/well 가하고 다시 37°C에서 90분간 반응시켰다. Plate를 PBST로 세척한 후 H₂O₂ 기질인 0.04% o-phenylenediamine 용액 100 µl를 가하고 상온, 차광 하에서 효소에 의한 발색 반응을 시켰다. 약 10분 후 2.5 N 황산용액을 50 µl 가하여 반응을 정지시키고, 파장

490 nm에서 ELISA reader(Molecular Devices Co., Menlo Park, CA, U.S.A.)로 흡광도(optical density, O. D.)를 측정 비교하였다. 모든 검체는 triplicate로 하여 그 평균값을 구하였으며 혈청을 가하지 않은 well의 평균값과의 차이를 결과 분석에 이용하였다.

7. 통계학적 분석

모든 실험결과는 Kruskal-Wallis one way analysis of variance(ANOVA)를 이용하여 통계처리 하였고 각 군 간의 비교는 Bonferroni's modified t-test(Wallenstein 등, 1980)를 사용하여 p<0.05 수준 이하에서 유의성을 검정하였다.

III. 결 과

1. 체중 및 장기 무게의 변화

Methidathion의 투여가 체중 및 장기 무게에 미치는 영향을 알아보기 위해 플라크 형성세포 및 혈청 IgG 항체가 측정시험 수행시 투여군의 개체 중량 및 장기 무게를 각각 측정·비교하였다. 두 시험에서의 결과는 매우 유사하여 대조군과 methidathion 투여군 모두 투여전에 비해 체중이 증가하였으며, 체중 변화율의 경우 methidathion 투여군과 대조군간에 유의적인 차이는

Table 1. Change of body weights and relative organ weights following 14-day exposure to methidathion for determination of PFC response

Group	Dosage (mg/kg/day)	Change of body weights ^{a)} (%)	Relative organ weights ^{b)} (%)			
			Spleen	Thymus	Liver	Kidney
Control	0.0	108.7±7.4	0.57±0.09	0.19±0.05	6.05±0.53	1.48±0.14
Methidathion	0.5	109.5±6.1	0.62±0.06	0.19±0.03	6.11±0.60	1.41±0.15
	5.0	108.3±5.8	0.61±0.08	0.17±0.05	6.20±0.47	1.47±0.17

Male BALB/c mice received methidathion orally for 14 days, and received SRBC intraperitoneally 4 days prior to sacrifice. Body and organ weights were determined 24 hours after following the final dosing. Values are the mean±S.D. from 24 to 25 animals. There were no significant differences between control and the treated groups in all cases.

^{a)}Change of body weight (%)=(final body weight/initial body weight)×100. ^{b)}Relative organ weight (%)=(organ weight/final body weight)×100.

Table 2. Changes of body weights and relative organ weights following 14-day exposure to methidathion for determination of serum IgG level

Group	Dosage (mg/kg/day)	Change of body weights ^{a)} (%)	Relative organ weights ^{b)} (%)			
			Spleen	Thymus	Liver	Kidney
Control	0.0	111.5±6.8	0.43±0.06	0.23±0.07	5.33±0.33	1.36±0.13
Methidathion	0.5	113.3±9.0	0.43±0.05	0.23±0.06	5.67±0.50	1.44±0.11
	5.0	113.5±6.2	0.48±0.08	0.21±0.04	5.45±0.58	1.43±0.11

Male BALB/c mice received methidathion orally for 14 days, and received HEL intraperitoneally on the day 1st and 8th of treatment. Body and organ weights were determined 24 hours after following the final dosing. Values are the mean±S.D. from 19 to 24 animals. There were no significant differences between control and the treated groups in all cases.

^{a)}Change of body weight (%)=(final body weight/initial body weight)×100. ^{b)}Relative organ weight (%)=(organ weight/final body weight)×100.

Table 3. Spleen weights and spleen cellularities of BALB/c mice exposed to methidathion for determination of PFC response

Group	Dose (mg/kg/day)	Spleen weight (mg)	Viable cells/spleen ($\times 10^6$)
Control	0.0	154.7 \pm 21.0	100.1 \pm 9.4
Methidathion	0.5	165.1 \pm 18.1	92.7 \pm 6.2
	5.0	167.8 \pm 27.0	89.7 \pm 8.3

Methidathion was administered orally for 14 days. Male BALB/c mice received SRBC intraperitoneally 4 days prior to sacrifice. Animals were sacrificed 24 hours after following the final dosing. Cell viability was determined by trypan blue dye exclusion. Values are the mean \pm S.D. from 24 to 25 animals. There were no significant differences between control and the treated group.

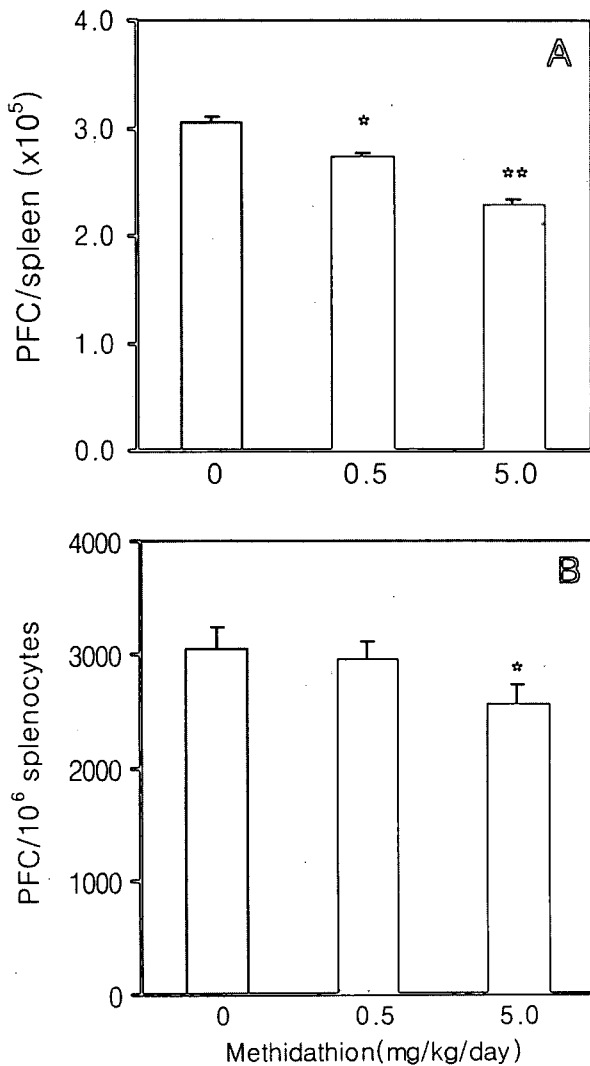


Fig. 1. Antibody responses to SRBC by measuring SRBC-specific antibody forming cells following exposure to methidathion (0.5 or 5.0 mg/kg/day) in male BALB/c mice. Methidathion was administered orally for 14 days. Animals received SRBC intraperitoneally 4 days prior to sacrifice. (A) Antibody responses to SRBC expressed as PFC/spleen; (B) Antibody responses to SRBC expressed as PFC/ 10^6 splenocytes. Results represent the mean \pm S.D. from at least 21 animals. * p <0.05 vs control, ** p <0.01 vs control.

없었고 비장, 흉선, 간장, 신장의 최종 체중에 대한 상대증량 역시 유의성 있는 차이가 없었다(Tables 1과 2).

2. 비장에 대한 영향

Methidathion이 2차 면역장기인 비장에 미치는 영향을 알아보기 위한 지표로서 methidathion 투여후 비장의 무게와 비장의 세포성을 측정하였다. Methidathion의 투여로 인해 살아있는 비장세포의 수는 다소 감소하는 경향을 보였으나 비장의 절대증량 및 비장당 살아있는 비장세포의 총 수 모두 통계학적인 유의성은 없었다(Table 3).

3. 체액성 면역 반응

Methidathion 투여에 따른 체액성 면역 반응의 변화를 알아보기 위해 T-세포 의존성 항원인 SRBC와 HEL로 각각 감작시킨 마우스의 비장세포에서 SRBC에 대한 IgM 생성 및 HEL에 대한 IgG 생성에 미치는 영향을 비교평가하였다.

1) 플라크 형성 세포수의 변화

Methidathion을 0.5 또는 5.0 mg/kg 용량으로 14일간 투여 후 플라크 형성 세포 반응으로 측정된 항체 생성능은 각각 272,700 \pm 3,529 및 228,150 \pm 5,352 PFC/spleen으로 두 용량 모두에서 대조군(303,750 \pm 6,364 PFC/spleen)에 비해 용량 의존적으로 유의성있게 감소

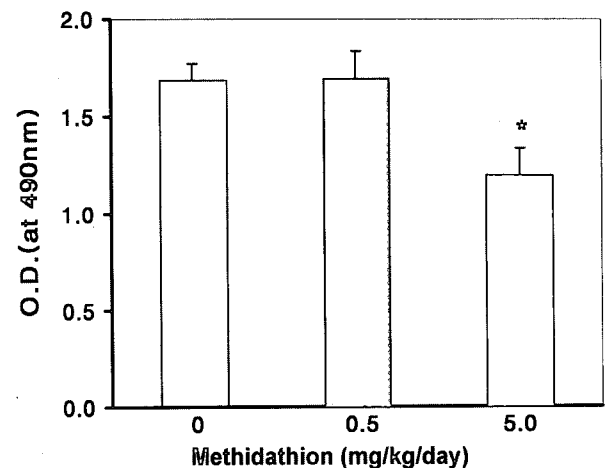


Fig. 2. Effects of methidathion (0.5 or 5.0 mg/kg/day) on the levels of serum IgG to HEL in male BALB/c mice. Methidathion was administered orally for 14 days. Animals received HEL intraperitoneally on the day 1st and 8th of treatment, and the levels of serum IgG were determined by ELISA. Results represent the mean \pm S.D. from 10 animals. * p <0.05 vs control.

하였으나, 살아있는 비장세포당 비교할 경우에는 각각 $2,942 \pm 164$ 및 $2,555 \pm 185$ PFC/ 10^6 splenocytes로 대조군($3,036 \pm 195$ PFC/ 10^6 splenocytes)에 비하여 5.0 mg/kg methidathion 투여군만이 유의성 있게 감소하였다 (Fig. 1A와 1B).

2) 혈청 중의 IgG 변화

Methidathion 투여가 HEL에 대한 혈청 중의 IgG 항체가 미치는 영향을 비교하기 위해 ELISA를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정된 결과 대조군에서의 흡광도 치는 1.68 ± 0.09 이었으며, 0.5 및 5.0 mg/kg methidathion 투여군에서는 각각 1.69 ± 0.14 및 1.20 ± 0.13 으로 5.0 mg/kg methidathion 투여군에서는 유의성 있는 변화가 관찰되었다(Fig. 2).

이상의 결과로 methidathion은 독성을 나타내지 않는 저용량 범위에서도 체액성 면역 반응을 저하시킬 수 있음을 알 수 있었으며 이러한 변화는 투여량 또는 사용된 특정 항원에 따라 다소 차이가 있음을 알 수 있었다.

IV. 고 찰

농약의 독성은 주로 신경계 및 표적 장기에 초점을 맞춰 많은 연구가 되어 왔으며 특히 과량 투여시 발생하는 독성을 중심으로 연구가 수행되었다. 본 연구에서는 유기인계 농약에 반복 노출되었을 때 발생 가능한 유해성과 관련하여 지금까지 오랫동안 광범위하게 사용되어 온 methidathion을 BALB/c 마우스에 14일간 경구투여하고 체중 및 장기의 무게 변화와 같은 일반적 독성 지표와 함께 면역장기인 비장의 cellularity와 특정 항원에 대한 항체 생산능을 측정하여 체액성 면역 반응을 평가함으로써 면역계에 미치는 영향에 대하여 연구하였다.

Methidathion 그 자체는 다른 유기인계 농약에 비해 cholinesterase 저해능이 낮으며 활성화되기 위해서는 P-S 결합의 산화가 일어나야 한다(Bull, 1968). 지금까지 알려진 methidathion의 독성으로는 2년간 경구투여한 비글 견에서 담즙울체, 만성간염 및 적혈구 cholinesterase 저해가 발표된 바 있으며(Chang 등, 1992) 사람의 경우에는 1예의 급성 중독(Zoppellari 등, 1990)과 만성 중독 건(Willis 등, 1977)이 보고되었지만 특정 증상은 없었다.

마우스에서 methidathion의 급성 경구 LD₅₀ 치는 25~70 mg/kg로 알려져 있는데(Tomlin, 1994) 본 실험에서는 LD₅₀ 치의 약 1/10 또는 1/100 용량의 methi-

dathion을 투여하였다. 체중 및 장기의 무게 변화는 화학물질의 독성 여부를 추정할 수 있는 일차적인 변수로, 여러 연구 결과를 종합하여 볼 때 특히 면역 장기인 비장과 흉선의 체중에 대한 상대적 무게 변화는 면역계의 이상을 간접적으로 확인할 수 있는 지표라 할 수 있다(Kowalczyk-Bronisz 등, 1992; Ladics 등, 1994). 본 실험 결과에서는 농약투여에 의해 체중과 장기 무게에 별다른 변화가 없었는바 methidathion은 상기 용량에서 현저한 독성을 유발하지 않는 것으로 사료되었다.

일반적으로 항체생성능 평가에 있어 ELISA를 이용한 혈 중 항체가 측정법이 가장 민감한 것으로 알려져 있으나 Siroki 등(1994)은 마우스에서 pyrethroid계 농약인 supercypermethrin forte의 면역독성 여부를 다양한 용량과 투여기간에서 연구한 결과 SRBC에 대한 PFC 측정이 면역독성을 검출하는데 있어 가장 적절한 방법임을 보고한 바 있다. 본 연구에서 SRBC에 대한 PFC 반응은 비교적 저용량이라고 할 수 있는 0.5 mg/kg methidathion 투여군에서의 비장당 생성된 PFC의 유의적 감소를 포함하여 두 용량 모두에서 유의성 있게 저하되었으며 그 저하도는 용량 의존적인 반면 HEL에 대한 혈청 중 IgG 치는 5.0 mg/kg methidathion 투여군만이 대조군에 비해 약 30% 저하되었다.

Casale 등(1982)은 여러 유기인계 농약에 불순물로 함유된 O,O,S-trimethyl phosphorothioate에 의한 면역능 저하와 관련하여 cholinesterase 저해로 인해 축적된 acetylcholine의 면역계에 대한 직접적인 작용 또는 choline성 중독 현상과 관련된 이차적인 스트레스의 가능성을 그 기전으로서 제시하였다. 임파구 및 대식세포에서의 콜린성 수용체 발견(Richman과 Arnason, 1979; Whaley 등, 1981)은 이러한 가설을 뒷받침하고 있다고 사료되나 면역세포에 대한 농약 자체의 세포독성도 배제할 수는 없다.

일반적으로 유기인계 농약과 유기염소계 농약은 호르몬 기능에 영향을 미치는데 Szoi와 Murphy(1970)는 흰쥐에 치사량 이하의 parathion 투여시 혈중 corticosteroid의 농도가 상승됨을 보고하였으며 특히 corticosteroid의 면역억제작용에 대하여는 많은 보고가 있었다(Gillis 등, 1979; Riley, 1981; Wilckens, 1995). 따라서 농약투여에 의한 항체생성능 저하에는 corticosteroid를 경유하는 간접 경로의 관여 가능성이 고려될 수 있다. 나아가 methidathion의 면역독성 가능성에 대한 종합적인 위해성 평가를 위해서는 세포성 면역능 및 NK 세포 활성화 등과 같은 연구가 추가로 진행되어야 할 것이다.

참고문헌

- Blair, A., Gravman, D.J., Lubin, J.H. and Fraumeni, J.F.Jr. (1983): Lung cancer and other causes of death among licensed pesticide applicators, *J. Natl. Cancer Inst.*, **71**, 31-37.
- Bull, D.L. (1968): Metabolism of O,O-dimethyl phosphorodithioate S-ester with 4-(mercaptomethyl)-2-methoxy- Δ^2 -1,3,4-thiadiazolin-5-one (Geigy GS-13005) in plants and animals, *J. Agricultural Food Chem.*, **16**, 610-616.
- Carman, G.E., Iwata, Y., Dusch, M.E., Dinoff, T.M. and Gunther, F.A. (1981): Residues of malathion and methidathion on and in fruit after dilute and low-volume spraying of orange trees, *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **27**, 864-868.
- Casale, G.P., Cohen, S.D. and Dicapua, R.A. (1982): Effects of parathion on the IgM and IgG responses to sheep red cells in two mouse strains, *Toxicologist*, **2**, 94-99.
- Casale, G.P., Cohen, S.D. and Dicapua, R.A. (1983): The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody response to sheep erythrocytes in inbred mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **68**, 198-205.
- Chang, J.C.F., Walberg, J.A. and Campbell, W.R. (1992): One-year dietary toxicity study with methidathion in beagle dogs, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **19**, 307-314.
- Chen, H.H., Hsueh, J.L., Sirianni, S.R. and Huang, C. C. (1981): Induction of sister-chromatid exchanges and cell cycle delay in cultured mammalian cells treated with eight organophosphorous pesticides, *Mutat. Res.*, **88**, 307-316.
- Francesco P.D., Marini S., Pica F., Favalli C., Tubro E. and Garaci E. (1992): *In vivo* cocaine administration influences lymphokine production and humoral immune response, *Immunol. Res.*, **11**, 74-79.
- Gaines, T.B. and Linder, R.E. (1986): Acute toxicity of pesticides in adult and weaning rats, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **7**, 299-308.
- Gallo, M.A. and Lawryk, N.J. (1991): Organic phosphorous pesticides in Handbook of Pesticide Toxicology, Vol. 2. Classes of Pesticides (Hayes, W.J.Jr. and Laws, E.R. eds.), Academic Press, San Diego, California, 924-926.
- Gillis, S., Crabtree, G.R. and Smith, K.A. (1979): Glucocorticoid-induced inhibition of T-cell growth factor production. I. The effect on mitogen-induced lymphocyte proliferation, *J. Immunol.*, **123**(4), 1624-1631.
- Kashyap, S.K. (1986): Health surveillance and biological monitoring of pesticide formulators in India, *Toxicol. Lett.*, **33**, 107-114.
- Kowalczyk-Bronisz, S., Giellanowski, J., Bubak, B. and Kotz, J. (1992): Studies on effect of pesticide chlorofenwinfos on mouse immune system, *Arch. Immunol. Therap. Exp.*, **40**, 283-289.
- Ladics, G.S., Smith, C., Heaps, K. and Loveless, S.E. (1994): Evaluation of the humoral immune response of CD rats following a 2-week exposure to the pesticide carbaryl by the oral, dermal, or inhalation routes, *J. Toxicol. Environ. Health*, **42**, 143-156.
- Luster, M.I., Munson, A.E., Thomas, P., Holsapple, M. P., Fenter, J., White K.L.Jr., Lauer, L.D., Germolec, D.R., Rosenthal, G.J. and Dean, J.H. (1988): Development of a testing battery to assess chemical-induced immunotoxicity evaluation in mice, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **10**, 2-19.
- Mallipudi, N.M., Talcott, R.E., Ketterman, A. and Fukuto, T.R. (1980): Properties and inhibition of rat malathion carboxyesterases, *J. Toxicol. Environ. Health*, **6**, 585-593.
- Quest, J.A., Copley, M.P., Hamernik, K.I., Rinde, E., Fisher, B., Engler, R., Burnam, W.L. and Fenner-Crisp, P.A. (1990): Evaluation of the carcinogenic potential of pesticide. 2. Methidathion, *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **12**, 117-126.
- Richman, D.P. and Arnason, B.G.W. (1979): Nicotinic acetylcholine receptor: Evidence for a functionally distinct receptor on human lymphocytes, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **76**, 4632-4635.
- Riley, V. (1981): Psychoneuroendocrine influences on immunocompetence and neoplasia, *Science*, **212**, 1100-1109.
- Rodgers, K.E., Leung, N., Ware, C.F., Devens, B.H. and Imamura, T. (1986): Lack of immunosuppressive effects of acute and subacute administration of malathion on murine cellular and humoral immune responses, *Pestic. Biochem. Physiol.*, **25**, 358-365.
- Rodgers, K. and Ellefson, D. (1992): Mechanism of the modulation of murine peritoneal cell function and mast cell degranulation by low doses of malathion, *Agents Action*, **35**, 57-63.
- Siroki, O., Tatar, E.I. and Desi, I (1994): Immunotoxicological investigation of SCMF, a new pyrethroid pesticide in mice, *Human Exp. Toxicol.*, **13**, 337-343.
- Szoi, R.J. and Murphy, S.D. (1970): Phenobarbital and dexamethasone inhibition of the adrenocortical response of rats to toxic chemicals and other stresses, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **17**, 761-773.
- Thomas, P.T. (1995): Pesticide-induced immunotoxicity:

- Are Great Lakes residents at risk?, *Environ. Health Perspect.*, **103**(6), 55-61.
- Tomlin, C. (1994): The Pesticide Manual Incorporating The Agrochemicals Handbook (10th edition), The Bath Press, Bath, 675-676.
- Umetsu, N., Mallipudi, N.M., Toia, R.F., March, R.B. and Fukuto, T.R. (1981): Toxicological properties of phosphorothioate and related esters present as impurities in technical organophosphorous insecticides, *J. Toxicol. Environ. Health*, **7**, 481-497.
- Vial, T., Nicolas, B. and Descotes, J. (1996): Clinical immunotoxicity of pesticides, *J. Toxicol. Environ. Health*, **48**, 215-229.
- Wallenstein, S., Zucker, C.L. and Fleiss, J.L. (1980): Some statistical methods useful in circulation research, *Circ. Res.*, **47**, 1-9.
- Wilckens, T. (1995): Glucocorticoids and immunofunction: Physiological relevance and pathogenic potential of hormonal dysfunction, *Trends Pharmacol. Sci.*, **16**, 193-197.
- Willis, J.H., Bradley, J.D., Russel, J.C. and Coulston, F. (1971): The safety for man of small daily doses of an organophosphate acaricide (GS 13005), *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **19**, 399-405.
- Whaley, K., Lappin, D. and Barkas, J. (1981): C₂ synthesis by human monocytes is modulated by a nicotinic cholinergic receptor, *Nature*, **293**, 580-583.
- Zoppellari, R., Targa, L., Tonini, P. and Zatelli, R. (1990): Acute poisoning with methidathion: A case, *Human Exp. Toxicol.*, **9**, 415-419.
- 윤은이, 신전수, 박현애, 김미영, 선우연, 한형미 (1994): Methamphetamine이 면역장기 및 항체생성능에 미치는 영향, *응용약물학회지*, **2**, 54-58.