

# 비장세포의 Th cytokine 생산에 있어서 chlorpyrifos의 영향

채 병 숙

우석대학교 이공대학

## Effects of Chlorpyrifos on the Production of Splenic Th Cytokines

Byeong Suk Chae

College of Science and Engineering, Woosuk University, Samrae-Up, Jeonbuk, 565-701, Korea

### Abstract

A helper T (Th)1-mediated response is known to enhance cell-mediated immunity, while a Th2-mediated response is associated with the humoral immunity that is elevated IgE levels and eosinophilia. Prostaglandin (PG)E<sub>2</sub> results in the decreased capability of lymphocytes to produce Th1 cytokines, with a shift toward a Th2 cytokine response. Chlorpyrifos (CPF) has been reported to impair the blastogenesis and response of T lymphocytes. CPF also induces delayed febrile effects, which results from the activation of COX-PGE<sub>2</sub> pathway. The purpose of this study is to determine the effect of CPF on the *in vitro* production of Th cytokines and the role of PGE<sub>2</sub> on the CPF-induced production of Th cytokines. Splenocytes obtained from male BALB/c mice were pretreated with CPF (0.1, 1, 10 and 100 µM) in the presence or absence of indomethacin or PGE<sub>2</sub> for 12 h and then were incubated with concanavalin (Con) A for 48 h. These results showed that CPF remarkably reduced the production of splenic interleukin (IL)-2 and interferon (IFN)-γ in a dose-dependent manner. CPF significantly increased the splenic IL-4 production at low doses (0.1 and 1 µM) but did not affect at high doses (10 and 100 µM). Indomethacin reduced the CPF-decreased production of IL-2 and IFN-γ in a dose-dependent manner and significantly attenuated the production of IL-4 increased by CPF 0.1 µM. High dose of CPF significantly reduced the PGE<sub>2</sub>-decreased production of IL-2 and IFN-γ, while the PGE<sub>2</sub>-induced production of IL-4 was significantly enhanced by CPF 1 µM. These findings suggest that CPF may down-regulate the immune response of Th1 type by the suppressed production of IL-2 and IFN-γ, with a shift toward a Th2 cytokine response. The CPF-decreased production of Th1 cytokines may not be mediated by endogenous PGE<sub>2</sub>. Also, CPF may attenuate the exogenous PGE<sub>2</sub>-decreased Th1 immune response in a dose-dependent manner but may affect dose-independently the PGE<sub>2</sub>-induced Th2 immune response.

**Key words** : Chlorpyrifos, Indomethacin, IL-2, IFN-γ, IL-4, PGE<sub>2</sub>

### 서 론

Chlorpyrifos (CPF)는 농업 또는 해충의 제어목적

으로 광범위하게 사용되고 있는 cholinesterase 차단제로 작용하는 유기인계 살충제로써, 25°C pH 7에서 반감기는 29~74 d 정도로 유기염소계 살충체에 비해서 환경 중에서 분해되기 쉬우며 생체 내에서도 쉽게 대사됨으로 유기염소계 살충제의 난분해성의 문제점을 보완하고 있다. 그러나 CPF는 비극

※ To whom correspondence should be addressed.

Tel: 82-63-290-1426, E-mail: cbse@core.woosuk.ac.kr

성분자로서 물에 매우 낮게 용해되며 수중 생태계에서 물고기에서의 농축계수가 100~5100에 달하는 등 수중에서 환경 중 유기생태계로 유입되는 경향이 있고, 광범위하게 사용됨으로서 급만성독성 문제를 야기한다(Racke, 1993). CPF는 만성적 폭포로 선택적 학습능력에 결함을 나타내는 등 신경독성이 있는 것으로 알려져 있고, 특히 발달단계에 있는 동물에서 더 과민한 것으로 나타났다(Cohn and Macphail, 1997).

그런데 CPF의 면역생물학적 효과에 대한 연구는 매우 빈약한 실정이다. Blakley 등(1999)은 CPF가 Con A와 phytohemagglutinin (PHA)에 의해 유도되는 T 림파구의 blastogenesis 장애가 유발되었으며, 마크로파지에 의존적인 T 림파구의 면역반응을 저하시켰으나 마크로파지의 phagocytosis에는 영향을 주지 않았고, lipopolysaccharide (LPS)/dextran에 의해 유도되는 B 림파구의 blastogenesis는 변화되지 않았지만 체액성 면역반응은 저하되었다고 보고되었다. 또한 CPF는 neonatal rats에서 Con A에 의한 T 세포의 면역반응에 영향을 주지 않았으나 성숙한 후 T 세포의 복제에서 유의성 있는 장애가 나타났다고 Navarro 등(2001)은 보고함으로써 유아기 때 CPF 폭포로 인한 장기적이고 지연발생적인 면역독성의 위험성을 강조하였다. Thrasher 등(1993)은 CPF에 노출된 사람들이 아토피와 항체에 대한 과민성의 발생률과 자가면역증 발생률이 높게 나타났다고 하였다.

Th 림파구가 Th1과 Th2 cytokine 중 어느 subsets 쪽으로 발현되는가는 외부적 또는 내부적 자극에 따른 암에 대한 감시기능, 감염에 대한 저항력, 알레르기 및 자가면역질환 유발 등 비정상적인 면역반응의 발현에 있어서 매우 중요하다(Mureille and Leo, 1998). 그러나 Th cytokine 생산에 있어서 CPF의 효과는 연구된 바가 없다. 또한 PGE<sub>2</sub>는 Th1 cytokine 생산을 저하시켜 Th1 세포성 면역반응을 억제시키고, Th2 phenotype으로 향하도록 분화를 촉진하며, IL-4, IL-5 생산을 증가시키고, IgE로 전환하는 immunoglobulin class의 생산을 촉진하는 것으로 나타났다(Roper *et al.*, 1995). 그런데 유기인계 살충제에 폭포됨으로서 초기에 저체온증을 보이거나 24시간 정도 지난 후에 체온상승을 나타내었으며, 이런 만발성 고체온증은 COX-PGE<sub>2</sub> 경로의 활성과 매우 연관하다고 하였다(Gordon and Rowsey,

1998a, b). 따라서 CPF의 T cell 기능저하에 PGE<sub>2</sub>가 중재할 것으로 사료되었으나 이에 대해 연구된 바가 없다.

따라서 본 실험은 Th1 cytokine인 IL-2 및 IFN- $\gamma$ 의 생산과 Th2 cytokine인 IL-4 생산에 미치는 CPF의 효과와 이 억제된 T cell 반응에 PGE<sub>2</sub>가 중재하는지에 대해서 규명하고자 하였다.

## 실험 방법

### 실험동물

수컷 BALB/c 생쥐(6~7주령)를 대한실험동물센터(충북 음성 소재)에서 분양 받아 온도 23±2°C, 습도 50~60%로 유지되는 12시간 순환식으로 명암이 조절된 항온, 항습 사육실에서 시판사료(제일사료 제품: 조단백질 22.5% 이상, 조지방 35% 이상, 조섬유 7.5% 이하, 조회분 10.0% 이하, 칼슘 0.7% 이상)로 7일간 굶식시켜 순화시켰다.

### 비장세포 부유액의 조제

비장을 생쥐로부터 무균적으로 적출하여 minimum essential medium (MEM: Gibco Lab. Co., Grand Island, N.Y., U.S.A.)으로 조심스럽게 분쇄한 후 nylon mesh로 여과하여 큰 세포덩어리를 제거하였으며, 4°C 400×g에서 5분간 원심분리하여 상등액을 제거 후 37°C의 0.83% (w/v) ammonium chloride 용액에 부유시켜 3분간 정치하여 적혈구를 용해시켰다. 이 비장세포 부유액은 한냉 Hanks' balanced salt solution (HBSS; Gibco Co., Grand Island, N.Y., U.S.A.)으로 4°C에서 3회 원심세척한 후, 비장세포수 3×10<sup>7</sup> cells/ml가 되도록 RPMI-1640 complete medium (10% fetal bovine serum, 100 U/ml Penicillin G, 100 µg/ml streptomycin, 1 mM HEPES buffer 및 2 mM sodium pyruvate)에 부유시켰다. 또한 매 실험 때마다 비장세포의 생존을 검사는 trypan blue exclusion method (Shapiro, 1988)로 다음과 같이 실시하였다. 시험관에 0.3 ml의 세포부유액을 넣은 후 0.1 ml의 trypan blue dye용액을 가하여 5분 경과시킨 다음, 백혈구 계산판에서 무색인 생세포와 청색으로 염색된 사세포 수를 측정한 후 그 백분율을 계산하였다.

### 배양된 비장세포에 의한 cytokine의 유도

비장세포 부유액 100  $\mu$ l ( $3 \times 10^6$  cells/well)을 96 well plate (Falcon 3047; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)에 분주하고, 200 nM PGE<sub>2</sub> 또는 1  $\mu$ M indomethacin 존재 또는 부재하에서 CPF 0.1, 1, 10, 100  $\mu$ M로 처리하였고, 대조군은 같은 방법으로 vehicle 처리하였으며, 37°C 5% CO<sub>2</sub> incubator (Forma, U.S.A.)에서 배양 후 12시간에 최종농도 1  $\mu$ g/ml인 Con A (Sigma Co., Ltd., U.S.A.)로 자극하여 배양하였고, cytokine 측정을 위해 48시간 후 배양액을 얻어 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 측정 때까지 -70°C에 보관하였다.

### ELISA를 이용한 비장세포의 cytokines의 측정

비장세포 배양액 중에서의 cytokines (IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ ) 농도는 ELISA 방법에 의해서 ELISA kit (R & D systems Inc., M.N., U.S.A.)를 이용하여 명시된 실험방법에 따라 측정하였고, ELISA microplate reader (Molecular Devices Co., Ltd., U.S.A.)를 사용하여 450 nm에서 2배수로 흡광도를 측정하고 540 nm에서 보정하였으며, 각 결과는 ml당 picogram 단위에서 정량하였다.

### 통계학적 분석

모든 자료는 means  $\pm$  standard error (S.E.)로 나타냈으며, 유의성 검사는 students' *t*-test로 행하였다.

### 결과 및 고찰

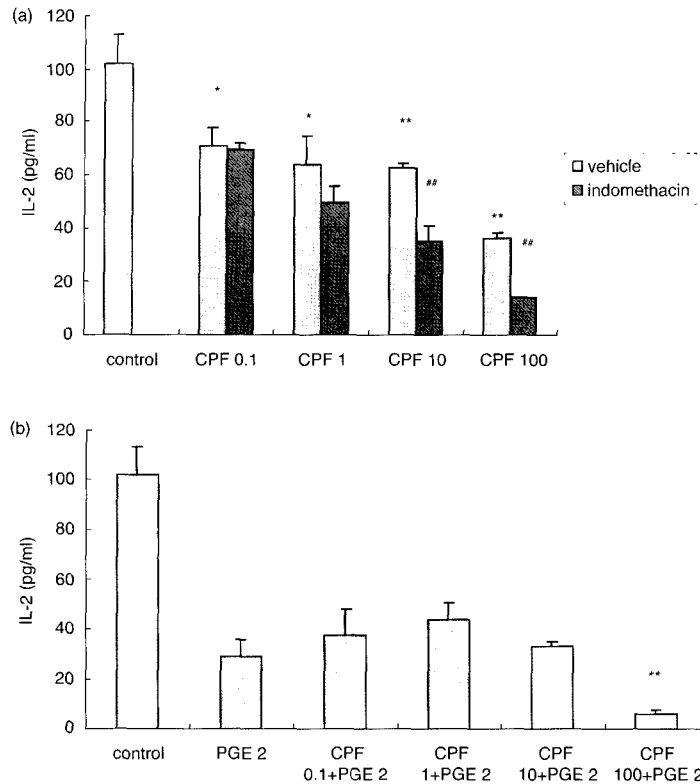
Th1형 세포는 IL-2, IFN- $\gamma$  및 tumor necrosis factor (TNF)- $\beta$  등을 생산하여, 미생물 항원에 대한 세포성 면역의 활성을 자극하고 매크로파지나 단핵구 활성화에 관여한다. Th2 면역반응은 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 및 IL-13 등을 생산하여 IgE 농도 및 eosinophile가 증가된 체액성 면역반응 및 항체 생산에 관여한다 (Abbas *et al.*, 1996; Decker *et al.*, 1996). 따라서 Th 림파구가 Th1과 Th2 중 어느 subsets 쪽으로 발현되는가 또는 Th1/Th2 균형에 있어서의 변화는 각종 자극에 따른 암에 대한 감시기능, infection에 대한 저항력, 알레르기 및 자가면역질환 유도 등 비정상적인 면역반응의 발현에

있어서 매우 중요하다 (Mucille and Leo, 1998).

본 실험은 Th1 cytokine 인 IL-2 및 IFN- $\gamma$ 의 생산과 Th2 cytokine인 IL-4 생산에 미치는 CPF의 효과를 규명하고자 실시하였으며, 그 실험결과, CPF는 비장세포의 IL-2 및 IFN- $\gamma$  생산을 농도 의존적으로 저하시켰으나 IL-4 생산은 저용량 CPF으로 유의성 있게 증가되었으나 고용량에서는 영향이 없었다. 또한 이런 cytokines 생산의 변화에 endogenous PGE<sub>2</sub>가 중재하지 않는 것으로 나타났다.

Th1 cytokine인 IL-2는 T cell의 증식 및 기능활성에 필수적인 요소이며, 암을 용해시킬 수 있는 lymphocyte activating killer (LAK) cell의 수를 증가시키고, natural killer (NK) cell 활성을 증진시키며, 여러 cytokine을 생산하고, cytolytic activity를 강화시켜 감염에 대한 저항력과 항암효과를 갖는다 (Commes *et al.*, 1986). 본 실험 결과에서, 비장세포의 IL-2 농도는 vehicle 처리한 대조군에 비해 CPF 0.1, 1, 10 및 100  $\mu$ M 처리로 30, 37, 38 및 64%씩 각각 유의성 있게 저하되었다 (Fig. 1a). Blakley 등 (1999)은 CPF가 Con A와 PHA에 의해 유도되는 T 림파구 blastogenesis 장애가 유발되었다고 보고하였고, Navarro 등 (2001)의 보고에 의하면, CPF는 Con A에 의한 T 세포의 면역반응저하를 유도하였다고 하였다. 본 실험결과에서 T 세포의 성장인자인 IL-2 생산에 있어서 CPF의 저하효과는 이런 보고들을 지지하고 있다. 따라서 CPF는 Th1 cytokine인 IL-2의 생산을 저하시켜 T cell 기능저하 및 T 세포의 blastogenesis 장애를 가져올 것으로 사료된다.

PGE<sub>2</sub>가 세포성 면역 억제제로써 Th1 cytokine 생산을 억제시켜 Th2 cytokine 반응을 촉진하는 것은 앞에서 언급한 바 있다. PGE<sub>2</sub> 차단효과를 갖는 indomethacin은 임상에서 널리 쓰이는 소염진통제로써, 상처난 동물에서 PGE<sub>2</sub>에 의해서 억제된 T cell의 활성화 및 IL-2 생산을 회복시켰고 (Choudhry *et al.*, 1995), 또한 폐암환자에서도 PHA 자극에 대한 림파구의 반응을 촉진시키는 것으로 알려졌다 (Maca *et al.*, 1985; Menetrier-Caux *et al.*, 1999). 본 실험에서는 유기인계 살충제가 감기와 유사한 열을 나타내며 이런 효과는 COX-PGE<sub>2</sub> 경로에 의해서 발생하는 것으로 보고되었기 때문에 (Gordon and Rowsey, 1998a, b), CPF의 Th1 cytokine인 IL-2



**Fig. 1.** Effect of chlorpyrifos on the splenic IL-2 production.

(a) CPF: Chlorpyrifos. To induce cytokines, 100  $\mu$ l splenocyte suspensions ( $3 \times 10^6$  cells/well) obtained from male BALB/c mice were incubated with following pretreatment of CPF (0.1, 1, 10 and 100  $\mu$ M) in the presence or absence of 1  $\mu$ M indomethacin for 12 h, and then stimulated with a final concentration 1  $\mu$ g/ml Con A for 48 h. Control was treated by vehicle with same regimen. Cytokine levels in splenic supernatants were obtained using ELISA.

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 5 cultures.

\*( $P < 0.05$ ) and \*\*( $P < 0.01$ ): Significantly different from the value in vehicle-treated controls.

##( $P < 0.01$ ): Significantly different from the value in each CPF-treated group.

(b) To induce cytokines, 100  $\mu$ l splenocyte suspensions ( $3 \times 10^6$  cells/well) obtained from male BALB/c mice were incubated with following pretreatment of CPF in the presence or absence of 200 nM PGE<sub>2</sub> for 12 h, and then stimulated with a final concentration 1  $\mu$ g/ml Con A for 48 h. Control was treated by vehicle with same regimen. Cytokine levels in splenic supernatants were obtained using ELISA.

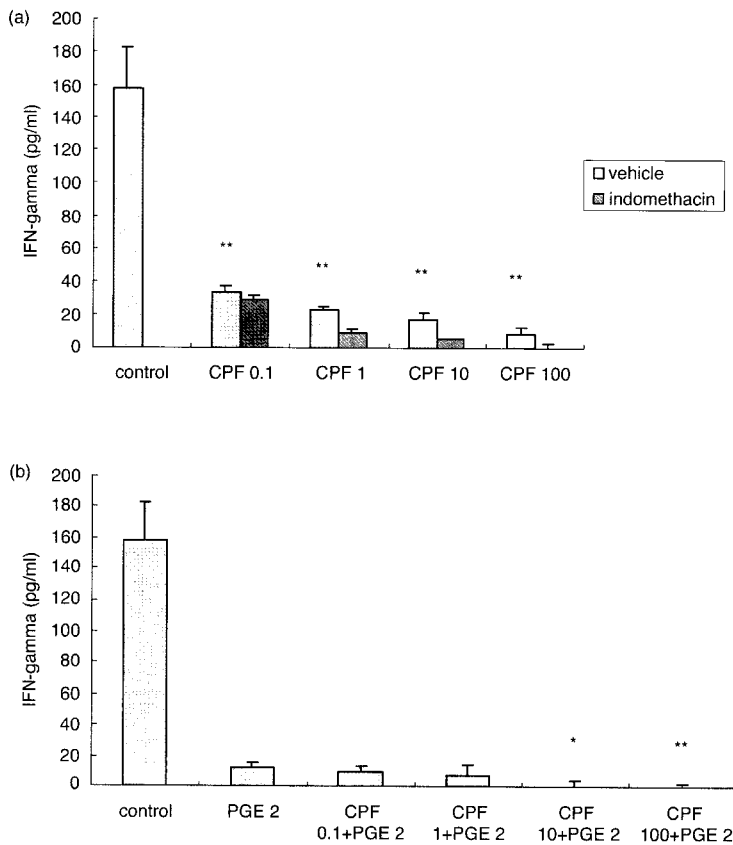
Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 5 cultures.

\*\*( $P < 0.01$ ): Significantly different from the value in PGE<sub>2</sub>-treated group.

생산 억제효과에 PGE<sub>2</sub>가 중재하는지를 알아보고자 indomethacin을 사용하였다. 그 결과, 대조군에 비해 CPF의 IL-2 생산억제효과가 indomethacin 처리로 회복되지 않았을 뿐만 아니라, 오히려 농도 의존적으로 IL-2 생산이 저하됨을 보여주고 있다. Indomethacin과 CPF 병용치리에 의해 생산된 IL-2 농도가 indomethacin 처리를 하지 않은 CPF 단독

처리군에 비해서 CPF 1, 10 및 100  $\mu$ M에서 각각 약 23%, 44% 및 60%씩 저하되었다(Fig. 1a). 따라서 CPF에 의해 저하된 IL-2 생산에 있어서 내인성 PGE<sub>2</sub>가 유의성 있게 중재하지 않는 것으로 사료되며, CPF 중독에 대한 치료에 있어서 indomethacin 사용은 매우 신중해야 할 것으로 사료된다.

또한 Fig. 1b에서, 저용량의 CPF는 외인성 PGE<sub>2</sub>



**Fig. 2.** Effect of chlorpyrifos on the splenic IFN- $\gamma$  production.

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 5 cultures. Other legends and methods are the same as in Fig. 1.

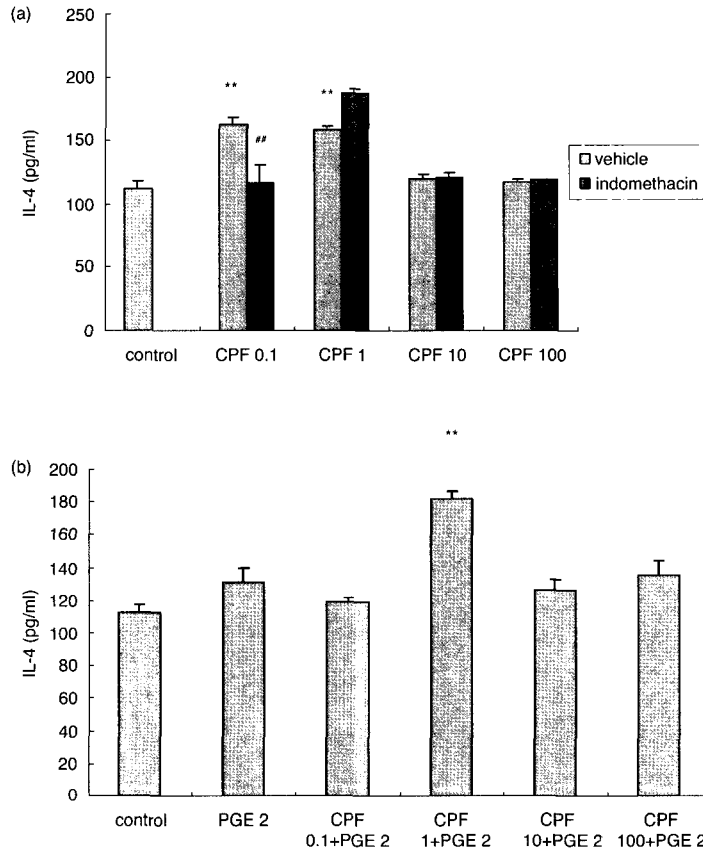
(a) \*\*( $P < 0.01$ ): Significantly different from the value in vehicle-treated controls.

(b) \*( $P < 0.05$ ) and \*\*( $P < 0.01$ ): Significantly different from the value in PGE<sub>2</sub>-treated group.

에 의한 IL-2의 억제된 생산에 유의성 있게 영향을 주지 않았으나, 고용량인 CPF 100  $\mu$ M은 훨씬 상승적으로 작용하여 PGE<sub>2</sub>에 의해 억제된 IL-2 생산을 현저히 저하시켰다. PGE<sub>2</sub>는 만성염증이나 암세포에서 높게 생산됨은 잘 알려져 있다(Kaur *et al.*, 1999; Menetrier-Caux *et al.*, 1999). 따라서 PGE<sub>2</sub> 생산이 증가된 질병상태에서 T cell의 면역반응에서 중요한 역할을 하는 IL-2의 저하된 생산이 CPF 고용량으로 폭로됨으로서 현저히 저하되어 질병으로 인한 T 세포의 저하된 면역반응을 더욱 악화시킬 것으로 사료된다.

IFN- $\gamma$ 는 Th1 세포, 마크로파지 및 NK cells 등에서 생산되는 세포성 면역반응을 통합하여 면역을 조절하는 cytokine로서, 강력한 마크로파지 활성화

NK cell의 세포독성을 증가시키고, 암세포를 인식하고 암 성장을 억제하는 면역체계를 자극함으로써 암에 대한 면역방어작용을 갖는데 중요한 역할을 한다(Onozaki *et al.*, 1985). 본 실험에서 비장세포의 IFN- $\gamma$  생산은 vehicle 처리한 대조군에 비해 CPF 0.1, 1, 10 및 100  $\mu$ M 처리로 각각 79%, 85%, 89% 및 95%씩 농도의존적으로 현저하게 저하되었다(Fig. 2a). CPF가 Con A와 PHA에 의해 유도되는 T 림파구의 blastogenesis 저하와 마크로파지에 의존적인 T 림파구의 면역반응의 저하를 가져왔다고 보고한 Blakley 등(1999)과 neonatal rats에 CPF를 폭로시켰을 때 바로 Con A에 의한 T 세포의 면역반응에서는 어떤 효과를 가져오지 않았으나 성숙한 상태에서는 T 세포의 복제에서 유의성 있는



**Fig. 3.** Effect of chlorpyrifos on the splenic IL-4 production.

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 5 cultures. Other legends and methods are the same as in Fig. 1.

(a) \*\*( $P < 0.01$ ): Significantly different from the value in vehicle-treated controls.

##( $P < 0.01$ ): Significantly different from the value in each CPF-treated group.

(b) \*\*( $P < 0.01$ ): Significantly different from the value in PGE<sub>2</sub>-treated group.

장애가 나타났다고 보고한 Navarro 등 (2001)의 보고에 의하면, 본 실험에서 CPF로 인해 저하된 T cell 기능이 IL-2는 물론 IFN- $\gamma$  생산이 저하됨으로서 유도됨을 보여주고 있다.

PGE<sub>2</sub>는 IFN- $\gamma$  생산을 저하시키는데 (Betz and Fox, 1991), indomethacin은 암진행상태에서 NK cell의 암에 대한 세포독성을 증가시키고, IFN- $\gamma$  유리를 증가시켜 암의 전이성을 차단하였으며 (Fulton, 1988; Yamamoto *et al.*, 1995; Bigda and Mysliwski, 1998), 감염된 생쥐에서 LPS에 의해 유도되는 IFN- $\gamma$  생산을 증가시켰으나 PGE<sub>2</sub>로 인해 그 효과가 저하되는 것으로 보고되었다 (Okamura *et al.*, 1987). Fig. 2a에서, indomethacin 처리로 IFN

- $\gamma$  생산이 회복되지 못하였고, 더구나 비록 유의성은 없지만 CPF 고용량으로 갈수록 농도의존적으로 indomethacin 처리에 의해 IFN- $\gamma$  생산이 더욱 저하됨을 보여주었다. 따라서 내인성 PGE<sub>2</sub>가 IFN- $\gamma$  생산저하에 관여할 수 있지만 CPF의 IFN- $\gamma$  생산저하효과에 indomethacin이 회복효과를 가져오지 못한 것으로 보아, PGE<sub>2</sub>가 아닌 다른 경로에 의해 CPF의 IFN- $\gamma$  생산저하가 유도되는 것으로 사료되며, 이에 대한 더 정확한 기전설명을 위해 많은 연구가 요구된다. 또한 본 실험에서 CPF는 외인성 PGE<sub>2</sub>로 인해 억제된 IFN- $\gamma$  생산을 용량의존적으로 저하시켰다 (Fig. 2b). 따라서 CPF는 질병상태에서 증가된 PGE<sub>2</sub>의 IFN- $\gamma$  생산저하효과와 협동적

으로 작용하여 억제된 세포성 면역을 더욱 약화시킬 것으로 사료된다.

IL-4는 Th2 cytokine으로써 B 세포의 활성화에 있어서 중요한 역할을 하며, 항체 생산을 촉진하는 것으로 잘 알려져 있다. 또한 IgG1 생산을 촉진하는 IL-6의 생산을 유도하여 결국 알레르기과 관련한 IgE 생산을 유도한다(Howells *et al.*, 1990). 본 실험 결과, 비장세포의 IL-4 생산은 대조군에 비해 CPF 0.1 및 1  $\mu\text{M}$ 에서 유의성 있게 각각 약 45% 및 41%로 상승되었으나, 고용량 10 및 100  $\mu\text{M}$ 에서는 변화가 없었다(Fig. 3a). 이 결과는 CPF가 T cell 증식에 있어서 억제적으로 작용하나 B 림파구의 blastogenesis에는 영향을 미치지 않았다는 Blakley 등(1999)의 보고를 지지하고 있다. 따라서 고용량의 CPF가 IL-4 생산에 변화를 주지 않았는데 비해 저용량 CPF는 유의성 있게 IL-4 생산을 증가시킴으로서 체액성 면역반응을 증가시킬 것으로 사료된다. 그러나 CPF가 Th1 cytokine 생산을 억제시키기 때문에 그에 따른 Th2 cytokine 반응이 촉진되는데 저용량 CPF가 이를 더욱 촉진시켜 Th1/Th2 balance 불균형을 더욱 유도함으로써 IgE 생산유도와 같은 바람직하지 못한 변화를 초래할 것으로 사료된다.

한편, PGE<sub>2</sub>는 Th1 cytokine 생산을 저하시키면서 IL-4와 같은 Th2 cytokine 생산에 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있다(Betz and Fox, 1991). 본 실험에서 CPF에 의한 비장세포의 IL-4 생산에 있어서 indomethacin은 CPF 0.1  $\mu\text{M}$ 에서 유의성 있게 감소시켰지만 전반적으로 농도비의존성을 보여주었으며, 외인성 PGE<sub>2</sub> 처리에 의해서 CPF 1  $\mu\text{M}$ 에서 유의성 있게 증가시켰으나 역시 CPF의 농도 의존성은 없었다(Fig. 3a, b). 따라서 CPF로 인한 IL-4 생산에 PGE<sub>2</sub>가 유의성 있게 중재하지 않을 것으로 사료된다. 그러나 CPF의 고용량에 비해서 저용량에서 IL-4 생산이 상승된 경우와 PGE<sub>2</sub> 단독처리에 비해 특히 CPF 1  $\mu\text{M}$  용량을 병용투여함으로써 IL-4 생산이 유의성 있게 상승된 기전에 대해서는 많은 연구가 요구된다.

## 결 론

Male BALB/c 생쥐에서 Th1 cytokine 인 IL-2 및

IFN- $\gamma$ 의 생산과 Th2 cytokine인 IL-4 생산에 미치는 CPF의 효과에 대하여 실시한 실험에서 얻어진 실험결과, CPF는 비장세포의 IL-2 및 IFN- $\gamma$  생산을 농도 의존적으로 저하시켰으나, IL-4 생산은 저용량의 CPF에서 유의성 있게 증가되었고 CPF 고용량에서는 영향을 없었다. 또한 PGE<sub>2</sub> 합성차단제인 indomethacin은 CPF로 억제된 IL-2 및 IFN- $\gamma$ 의 생산을 농도의존적으로 억제시켰으나, 저용량 CPF에서 증가된 IL-4 생산을 유의성 있게 감소시켰으나 고용량에서는 영향을 주지 못했다. CPF는 외인성 PGE<sub>2</sub>에 의해 억제된 IL-2 및 IFN- $\gamma$  생산을 농도의존적으로 더욱 억제시켰으나 IL-4 생산에 있어서는 농도 비의존성을 보여주었다.

따라서 CPF는 IL-2 및 IFN- $\gamma$  생산을 억제하여 Th1 면역반응을 억제함으로써 Th2 cytokine에 의한 면역반응을 촉진할 것이지만, 여기에 내인성 PGE<sub>2</sub>가 유의성 있게 중재하지 않을 것으로 사료된다. 또한 CPF는 외인성 PGE<sub>2</sub>에 의해 감소된 Th1 면역반응을 더욱 억제시킬 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 우석대학교 학술연구비에 의하여 수행된 것으로 지원에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Abbas AK, Murphy KM and Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes, *Nature* 1996; 383: 787-793.
- Betz M and Fox B. Prostaglandin E<sub>2</sub> inhibits production of Th1 lymphokines but not of Th2 lymphokines, *J. Immunol.* 1991; 146: 108-113.
- Bigda J and Mysliwski A. Indomethacin inhibits kidney metastasis in bomirski melanoma-bearing hamsters, and modulates natural killer cytotoxic activity of tumor hosts *in vivo* and *in vitro*, *Anticancer Res.* 1998; 18(5A): 3549-54.
- Blakley BR, Yole MJ, Brousseau P, Boermans H and Fournier M. Effect of chlorpyrifos on immune function in rats, *Vet. Hum. Toxicol.* 1999; 41(3): 140-144.
- Choudhry MA, Ahmad S and Sayeed MM. Role of Ca<sup>2+</sup> in prostaglandin E<sub>2</sub>-induced T-lymphocyte proliferative suppression in sepsis, *Infect. Immun.* 1995; 63(8): 3101

-5.

- Cohn J and Macphail RC. Chlorpyrifos produces selective learning deficits in rats working under a schedule of repeated acquisition and performance, *J. Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1997; 283(1): 312-320.
- Combes T, Klein B, Jourdan M and Bataille R. Production of interleukin 2 in multiple myeloma, *Clin. Exp. Immunol.* 1986; 63(3): 533-40.
- Decker D, Schöndorf M, Bidlingmaier F, Hirner A and von Ruecker AA. Surgical stress induces a shift in the type-1/type-2 T helper cell balance, suggesting downregulation of cell-mediated and up-regulation of antibody-mediated immunity commensurate to the trauma, *Surgery* 1996; 119: 316-325.
- Fulton AM. Inhibition of experimental metastasis with indomethacin: role of macrophages and natural killer cells, *Prostaglandins* 1988; 35(3): 413-25.
- Gordon CJ and Rowsey PJ. 1, Poisons and fever, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1998; 25(2): 145-149.
- Gordon CJ and Rowsey PJ. 2, Delayed febrile effects of chlorpyrifos: is there cross-tolerance to bacterial lipopolysaccharide? *Toxicology* 1998; 130(1): 17-28.
- Howells G, Pham P, Taylor D, Foxwell B and Feldmann M. Interleukin 4 induces interleukin 6 production by endothelial cells: synergy with interferon-gamma, *Eur. J. Immunol.* 1991; 21(1): 97-101.
- Kaur K, Harris SG, Padilla J, Graf BA and Phipps RP. Prostaglandin E<sub>2</sub> as a modulator of lymphocyte mediated inflammatory and humoral responses, *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999; 469: 409-411.
- Maca RD, Burford JG and Taylor RT. The effects of indomethacin and interleukin-2 on the proliferation of lymphocytes from patients with lung cancer, *J. Clin. Immunol.* 1985; 5(3): 158-165.
- Menetrier-Caux C, Bain C, Favrot MC, Duc A and Blay JY. Renal cell carcinoma induces interleukin 10 and prostaglandin E<sub>2</sub> production by monocytes, *Br. J. Cancer* 1999; 79(1): 119-130.
- Mureille E and Leo O. Revising the Th1/Th2 paradigm, *Scand. J. Immunol.* 1998; 47: 1-9.
- Navarro HA, Basta PV, Seidler FJ and Slotkin TA. Neonatal chlorpyrifos administration elicits deficits in immune function in adulthood: a neural effect? *Brain Res. Dev. Brain Res.* 2001; 130(2): 249-252.
- Okamura H, Wada M, Nagata K, Tamura T and Shoji K. Induction of murine gamma interferon production by lipopolysaccharide and interleukin-2 in *Propionibacterium acnes*-induced peritoneal exudate cells, *Infect. Immun. (GO7)* 1987; 55(2): 335-341.
- Onozaki K, Matsushima K, Kleinerman ES, Saito T and Oppenheim JJ. Role of interleukin 1 in promoting human monocyte-mediated tumor cytotoxicity, *J. Immunol.* 1985; 135(1): 314-320.
- Racke KD. Environmental fate of chlorpyrifos, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1993; 131: 1-150.
- Roper R, Brown D and Phipps R. Prostaglandin E<sub>2</sub> promotes B lymphocyte Ig isotype switching to IgE, *J. Immunol.* 1995; 154: 162-170.
- Shapiro HM. *Practical flow cytometry* 2nd ed., Wiley-Liss, New York 1988; p. 129.
- Thrasher JD, Madison R and Broughton A. Immunologic abnormalities in humans exposed to chlorpyrifos: preliminary observations, *Arch. Environ. Health* 1993; 48(2): 89-93.
- Yamamoto N, Zou JP, Li XF, Takenaka H, Noda S, Fujii T, Ono S, Kobayashi Y, Mukaida N and Matsushima K. Regulatory mechanisms for production of IFN-gamma and TNF by antitumor T cells or macrophages in the tumor-bearing state, *J. Immunol.* 1995; 154: 2281-90.