

Mancozeb 의 급성노출이 마우스의 면역기능에 미치는 영향

정애희 · 표명윤*^{#,}

서울특별시보건환경연구원, *숙명여자대학교 약학대학
(Received January 26, 2003; Revised February 12, 2004)

Effects of Acute Oral Administration of Mancozeb on the Immune Function in Mice

Ae-Hee Cheong and Myoung-Yun Pyo*^{#,}

Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public and Environment, Seoul 137-734, Korea
*College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Abstracts — Mancozeb, a polymeric complex of zinc and manganese salts of ethylene bithiocarbamate (EBDC), is used widely in agriculture as fungicides, insecticides, and herbicides. Mancozeb can be occupationally and environmentally exposed to human and has been reported to induce estrogenic activity, therein it is considered as an endocrine disrupter. We investigated the effects of acute exposure of Mancozeb on the immune function in mice. After single oral administration of Mancozeb to female ICR mice, the immunopathological parameters (body- and organ-weight, splenic cellularity, hematological parameters), mitogen (Con A, PHA+IL-2, LPS)-induced splenocyte proliferation (SP) and splenic IgM plaque forming cell (PFC). WBC and splenic cellularity were decreased, but liver-, kidney-, and spleen-weight were increased when compared with control group. Splenic IgM PFC against SRBC was slightly lowered. Mitogen-induced proliferation of spleen cells from Mancozeb-treated mice was not significantly changed *ex vivo*, however, SP *in vitro* were significantly lowered in concentration dependent manner. These results indicate that Mancozeb could affect the immune function in mice.

Keywords □ Mancozeb, immunopathology, IgM PFC, splenocyte proliferation

Mancozeb은 ethylene bisdithiocarbamate의 zinc와 manganese의 polymeric complex로 과일, 야채, 견과류, 농작물 등의 광범위한 살균제로 쓰이며, 사용법이 간편하고 단가가 저렴하여 우리나라에서도 사용량이 많은 농약이다(우리나라 출하량 : 95년-1546톤, 96년-1781톤, 97년-1824톤, 98년-1536톤).¹⁾

Mancozeb은 rat에서의 경구 LD₅₀가 8~15 g/kg/day^{2,3)}로 독성이 약한 편이지만 male rat에 Mancozeb을 경구 투여할 경우, 갑상선은 체중비에 따라 thyroid peroxidase와 thyroxine(T4)은 용량과 투여기간에 따라 의존적으로 변화하고³⁻⁵⁾ rat에 Mancozeb이 함유된 사료를 공급하면 체중감소⁶⁾와 간과 갑상선무게가 증가하고, 고용량(253 mg/kg, 379 mg/kg)에서는 신장, 부신, 정소 중량이 증가함을 보이며, 저용량(50 mg/kg)에서는 갑상선의 기능 손상이 되며 갑상선 호르몬 농도가 변화⁷⁾하는 등 Mancozeb의 갑상선에 대한 기관독성이 있음을 보고하고 있다.

Male rat에 1,000 mg/kg/day를 35일간 경구투여 했을 때 정소의 정자 수 감소와 이상정자 증가가 나타나고,⁸⁾ 동량을 180일간 경구 투여 했을 때는 정소중량 증가 및 정소상체 중량 감소가 있다고 보고하고 있으며⁹⁾ female rat에 Mancozeb 투여 후 성주기 변화와 건강 난포의 감소, 폐쇄 난포의 증가,¹⁰⁾ 마우스의 착상억제¹¹⁾ 등과 만성노출 후 male rat의 정액 감소 및 고환 중량증가, 부고환의 중량감소 등 생식선에 나타나는 병리학적인 변화¹²⁾ 등에 관한 보고가 있다. 또한 Mancozeb을 rat에 104주 동안 식이 투여 하였을 때 유방종양, 귀암, 간암, 췌장종양, 갑상선종양, 두개골의 뼈육종, 혈액임파망상구의 신형성 등의 증가와¹³⁾ rat에서 nitrosomethylurea(NMU)로 유발된 췌장암을 촉진한다는 보고^{14,15)}도 있으며 Colosio 등¹⁶⁾은 내분비계장애물질로 분류되고 있는 Mancozeb을 장기간 직업적으로 노출된 사람에게서 면역계 변화가 약하게 나타난다고 보고하였다. 그러나 Mancozeb의 일반독성이나 유전독성 및 생식독성 등에 대한 연구결과에 비해 면역계에 미치는 영향에 대한 연구결과는 거의 보고 되지 않아 본 연구에서는 Mancozeb이 생체내의 면역계에 미치는 영향을 체계적으로 검토하기 위하여 Mancozeb을 일차적으로 급성노출시킨 후 면역병리, 비

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-710-9573 (팩스) 02-710-9573
(E-mail) mypyo@sdic.sookmyung.ac.kr

장세포의 IgM 용혈반 형성세포수 및 비장세포 증식능을 측정하였다.

실험방법

시약 및 기기

실험물질로는 Mancozeb(86.5%, technical grade, Dau Agro Science, France)을 (주)경농에서 공급받아 사용하였고, 시약으로는 Coulter 제품인 Lyse, phosphate buffer, Clenz, Gibco 제품인 RPMI 1640 medium power, fetal bovine serum(FBS), antibiotic-antimycotic agent, MEM-nonessential amino acid, sodium bicarbonate, trypan blue, Hank's balanced salt solution(HBSS), guinea pig complement, Sigma 제품인 dimethylsulphoxide(DMSO), concanavalin A(Con A), phytohemagglutinin (PHA) lipopolysaccharides(LPS), interleukin-2(IL-2), 4-(2-hydroxy ethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid(HEPES), Amresco 제품인 3-(4,5,-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide(MTT)와 Wako 제품인 2-mercaptoethanol, 한국배지사의 sheep red blood cell(SRBC) 등을 사용하였으며 그 외의 시약은 모두 세포배양용 또는 특급을 사용하였다. 기기로는 CO₂ incubator(NAPCO, Precision scientific Inc.), Coulter counter (T-890, Coulter Co.), ELISA microplate reader(ELx800, BIO-TEK instruments Co.) Auto strip washer(ELx800, BIO-TEK instruments Co.) 등을 사용하였다.

실험동물

3~4주령인 ICR계 암컷 마우스를 유한양행 중앙연구소로부터 분양받아 고형사료(삼양사)와 수돗물을 자유롭게 공급하면서 실험동물실에서 2~3주간 적응시킨 후, 건강상태가 양호한 6~8주령(25±2 g)의 마우스를 선택하여 실험에 사용하였다. 실험동물실의 온도는 21~24°C, 습도는 40~60%로 유지하였고 조명은 12시간 간격으로 조정하였다.

실험물질의 조제 및 투여

In vitro 실험 - DMSO 1% 함유 배지에 Mancozeb을 용해하여 비장세포에 50, 500, 1,000, 1,500, 2,500 ng/ml 농도로 가하여 실험하였다.

Ex vivo 실험 - 예비실험에서 산출한 Mancozeb의 LD₅₀ (25.5 g/kg, ICR 암컷 마우스, 경구투여)를 기준으로 투여용량을 2,500, 5,000, 10,000 mg/kg을 1회 경구투여하여 급성노출시켰다. Mancozeb은 투여직전 3차 증류수에 현탁하였으며, 대조군에는 동량의 3차 증류수를 1회 경구투여하였다.

면역병리학적 변화 측정

체중 및 장기무게 측정 - 실험 전 물은 자유롭게 공급하면서

약 16시간동안 절식한 후 체중을 측정하였으며, 체중증가(g)는 실험일의 체중과 Mancozeb 투여일의 체중과의 차이로 나타내었다. 또한 각 장기의 증량비는 실험일에 실험동물의 비장, 흉선, 간장, 신장을 적출하여 각각의 무게를 실험일의 체중에 대한 백분율(%)로 나타내었다.

혈액학적 parameter 측정 - 마우스의 안장맥중에서 heparinized capillary(Chase instruments Co.)로 채혈하여 EDTA(K₃)가 들어 있는 시험관(Sherwood medical Co.)에 취하고 roll mixer로 혼합한 후 WBC(white blood cell), RBC(red blood cell), HGB(hemoglobin), HCT(hematocrit), MCV(mean corpuscular volume), MCH(mean corpuscular hemoglobin), MCHC(mean corpuscular hemoglobin concentration), PLT(platelet)를 Coulter counter로 측정하였다. Coulter counter는 사용 전에 4C plus[®] 액으로 WBC, RBC, HGB, HCT, PLT값을 표준용액에 맞게 보정한 후 혈액을 분석하였다.

비장세포수 측정 - Mancozeb 투여 후 실험일에 마우스의 비장을 적출하여 빙냉의 HBSS에 넣고 frosted microscope slides (Fisher Scientific)를 이용하여 비장세포액을 만들어 원심분리(1,000 rpm, 10 min, 4°C)하고 세포침전물에 RBC lysis buffer를 가하여 적혈구를 용혈시킨 후 원심분리하였다. 상정액을 제거하고 침전된 비장세포에 일정량의 HBSS용액을 가한 후 Turk's solution¹⁷⁾으로 세포수를 측정하여 비장세포수를 계산하였다.

Mitogen에 대한 비장세포 증식능 측정

In vitro 실험 - 정상 마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 빙냉의 RPMI 배지에 넣고 frosted microscope slides를 이용하여 비장세포액을 만들어 원심분리(1,000 rpm, 10 min, 4°C)하였다. 세포침전물에 RBC lysis buffer를 가하여 적혈구를 용혈시키고 원심분리한 후 상정액을 제거하여 PBS로 2회 원심세척하고 10% FBS-RPMI 배지를 가한 후 viable cell을 trypan blue exclusion method¹⁸⁾로 측정하여 4×10⁶ cells/ml가 되도록 비장세포액을 만들었다. 비장세포액 100 μl(2×10⁶ cells/ml)를 96 well flat bottomed plate의 각 well에 가하고 30분 동안 배양(37°C, 5% CO₂)하여 안정시킨 후 Mancozeb의 최종농도가 0, 50, 500, 1,000, 1,500, 2,500 ng/ml이 되도록 하고 LPS(50 μg/ml), Con A(2 μg/ml) 또는 PHA(5 μg/ml)와 IL-2(0.1 μg/ml)를 각각 가하여 배양하였고 3일 후에 MTT assay를 이용하여 mitogen에 대한 임파구 증식능을 측정하였다.

ex vivo 실험 - Mancozeb을 2,500, 5,000, 10,000 mg/kg 용량으로 1회 경구투여하여 급성노출시킨 후 2일 째에 마우스의 비장을 무균적으로 적출하였다. 앞의 *in vitro* 실험과 동일한 방법으로 조제한 비장세포액 100 μl(2×10⁶ cells/ml)를 96 well flat bottomed plate의 각 well에 가하고 30분 동안 배양(37°C, 5% CO₂)하여 안정시킨 후 LPS(50 μg/ml) 또는 Con A(2 μg/ml)를

가하고 10% FBS-RPMI 배지로 200 μ l가 되도록 하여 배양하였다. 배양 3일 후에 MTT assay를 이용하여 mitogen에 대한 비장세포 증식능을 측정하였다.

비장세포 중의 IgM plaque forming cell(PFC)수 측정

면역 및 실험물질 투여 - 비장세포중의 IgM 항체 생성세포수 (plaque forming cell : PFC)를 측정하기 위하여 항원인 면역적혈구(sheep red blood cell : SRBC)를 한국배지(주)에서 구입하여 4°C에 보관하면서 2주 이내에 사용하였다. 사용직전에 PBS 용액으로 3회 원심세척(2,500 rpm, 5 min, 4°C)한 후 Hayme's solution으로 세포수를 측정 한 다음 2×10^9 cells/ml가 되도록 PBS용액으로 조정하여 SRBC용액을 만들었다. SRBC용액 0.2 ml(4×10^8 cells)를 복강 주사하여 면역시킨 다음 Mancozeb을 2일 후에 투여하고 면역 후 4일째에 실험하였다.

비장세포액 조제 - 면역일로부터 4일 후에 모든 실험동물군의 비장을 적출하여 방냉의 HBSS에 넣고 frosted slide glass를 이용하여 비장세포액을 만들어 원심분리(1,000 rpm, 10 min, 4°C)한 후 세포침전물에 RBC lysis buffer를 가하여 적혈구를 용혈시킨 다음 원심분리하여 상정액을 제거하였다. 침전된 비장세포를 HBSS로 2회 원심세척한 후 일정량의 HBSS를 가하여 trypan blue exclusion method¹⁸⁾로 세포수를 측정하여 2×10^6 cells/ml의 비장세포액을 만들었다.

SRBC액 조제 - 4°C에 보관된 SRBC를 사용직전에 HBSS으로 3회 원심세척(2,500 rpm, 5 min, 4°C)한 후 Hayme's solution을 이용하여 5×10^9 cells/ml가 되도록 HBSS로 조정하였다.

SRBC에 대한 IgM PFC수 측정 - Cunningham의 방법¹⁹⁾을 약간 변형시킨 Deyo 등²⁰⁾의 방법을 사용하여 비장세포중의 IgM PFC수를 측정하였다. 즉, SRBC용액(5×10^9 cells/ml) 0.5 ml, 기니 펙 보체 0.3 ml, 10% FBS-HBSS 2.0 ml를 혼합한 액 50 μ l와 비장세포액(2×10^6 cells/ml) 50 μ l를 혼합하여 microchamber에 35 μ l씩 주입하고, 바세린과 파라핀을 동량 혼합한 액으로 밀봉하여 37°C에서 1시간 방치한 후 형성되는 PFC수를 현미경하에서 측정하여 비장세포 10⁶개 중의 PFC수로 환산하여 나타내었다.

통계 처리

각 실험군의 측정값의 평균과 표준편차를 구하고, 대조군의 실험치와 비교하여 Student's t-test로 유의성을 검정하였다.

실험결과 및 고찰

체중 및 장기무게에 미치는 영향

Mancozeb을 용량별로 1회 경구투여하여 급성노출시킨 후 2일째에 체중과 장기무게를 측정하여 그 결과를 Table I에 나타내

Table I - Changes of body- and organ-weight in the mice acutely administered Mancozeb

Exp. group	Control	Doses of Mancozeb (mg/kg)		
		2,500	5,000	10,000
B.W gain (g)	1.14±0.42	0.70±0.15	1.27±0.45	1.61±0.54
Spleen (%)	0.60±0.12	0.78±0.17*	0.74±0.15*	0.51±0.08
Thymus (%)	0.23±0.06	0.23±0.04	0.19±0.08	0.17±0.04*
Liver (%)	5.73±0.43	6.93±0.57**	6.56±0.46**	6.30±0.34**
Kidney (%)	1.31±0.13	1.41±0.09	1.54±0.06**	1.68±0.08**

Mancozeb was orally administered to ICR mice (2,500, 5,000, 10,000 mg/kg) for one time.

Mice were sacrificed on day 2 following administration of Mancozeb.

B.W gain (g)=final weight-initial weight.

Changes of organ weight (%)=(organ weight/body weight)×100.

The results are expressed as the means±S.D. of 3 separate experiments for 3 mice per treatment. Significant difference from control group (*p<0.05, **p<0.01).

었다. 간장의 중량비는 Mancozeb의 모든 용량에서 대조군에 비해 유의성있게(p<0.01) 증가하고 신장의 중량비도 5,000, 10,000 mg/kg 용량 투여군에서 유의성있게(p<0.01) 증가하였다. 비장의 중량비는 2,500, 5,000 mg/kg에서 증가되었으나 흉선의 중량비는 고농도(10,000 mg/kg)에서 대조군에 비해 유의적인(p<0.05) 감소를 보였다. 체중의 변화는 대조군에 비해 다소 차이는 있으나 유의성 있는 큰 변화를 보이지 않았으며 이는 Kackar 등³⁾이 male albino rat에 360일 동안 Mancozeb을 투여한 결과 30일까지는 유의성 있는 체중 변화가 없었으나 360일 후에는 유의성있는 체중증가율의 감소를 보였다는 보고를 볼 때 Mancozeb의 급성노출이 체중에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 보인다.

Table II - Changes of hematological parameters in the mice acutely administered Mancozeb

Hematological parameters	Control	Doses of Mancozeb (mg/kg)		
		2,500	5,000	10,000
WBC ($10^3/mm^3$)	7.5±1.5	5.3±1.0**	5.5±2.0**	4.0±1.4**
RBC ($10^3/mm^3$)	7.8±0.6	7.7±0.3	7.9±0.4	7.7±0.6
HGB (g/dl)	12.6±0.5	12.5±0.9	12.5±0.6	12.7±0.5
HCT (%)	40.2±1.8	40.0±1.6	40.5±1.9	39.8±1.4
MCV (μm^3)	51.6±1.2	51.6±1.2	50.6±2.0*	52.5±1.7*
MCH (pg)	16.0±1.2	16.3±1.2	15.7±0.8	15.7±0.7
MCHC (g/dl)	30.4±1.9	31.4±1.7	31.1±1.3	30.2±1.8
PLT ($10^3/mm^3$)	854±92	759±197	953±191	749±183*

Mancozeb was orally administered to ICR mice (2,500, 5,000, 10,000 mg/kg) for one time.

Mice were sacrificed on day 2 following administration of BPA. WBC (white blood cell, $10^3/m^3$), RBC (red blood cell, $10^3/mm^3$), HGB (haemoglobin, g/dl), HCT (hematocrit, %), MCV (mean corpuscular volume, μm^3), MCH (mean corpuscular haemoglobin, pg), MCHC (mean corpuscular haemoglobin concentration, g/dl), PLT (platelet, $10^3/mm^3$). The results are expressed as the means±S.D. of 3 eparate experiments for 3 mice per treatment. Significant difference from control group (*p<0.05, **p<0.01).

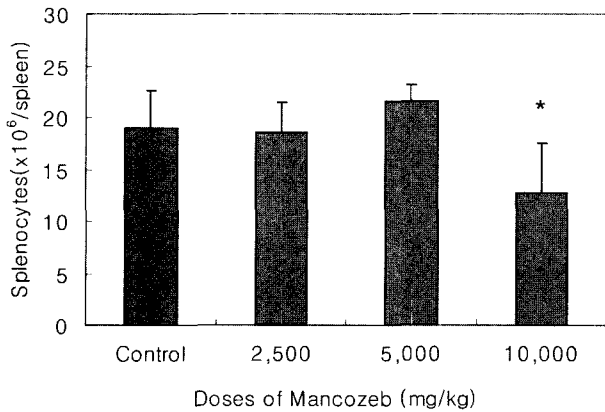


Fig. 1 – Splenic cellularity in the mice acutely administered Mancozeb. Mancozeb was orally administered to ICR mice (2,500, 5,000, 10,000 mg/kg) for one time. Mice were sacrificed on day 2 following administration of Mancozeb. The results are expressed as the means \pm S.D. of 3 separate experiments for 3 mice per treatment. Significant difference from control group (* $p < 0.05$).

혈액학적 parameter에 미치는 영향

Mancozeb을 용량별로 1회 경구투여로 급성노출시킨 후 2일째에 안정맥중에서 채혈하여 혈액학적 성상을 혈액자동분석기로 분석한 결과를 Table II에 나타내었다. 본 실험에서 대조군의 순환말초혈액내의 혈액학적 분석결과는 Guest 등²¹⁾이 보고한 결과와 유사하였다. 백혈구(WBC)수는 모든 투여용량에서 대조군에 비해 유의성있게($p < 0.01$) 감소되었으며 혈소판(PLT)은 5,000 mg/kg/day 투여군에서는 대조군에 비해 약간 증가하였으나 유의성은 없었으며 10,000 mg/kg/day 투여군에서는 유의성있게 감소하는 경향을 보였다. 그 외의 parameter에서는 큰 변화가 없었다.

비장세포수에 미치는 영향

Mancozeb을 용량별로 1회 경구투여로 급성노출시킨 후 2일째에 비장을 적출하여 비장세포수를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 2,500, 5,000 mg/kg 용량에서는 대조군에 비해 큰 변화가 없었으며 10,000 mg/kg 용량에서는 대조군보다 유의성있게($p < 0.05$) 감소하여 고농도로 Mancozeb을 급성노출시 비장세포수가 영향을 받는 것으로 보인다.

Mitogen에 대한 비장세포 증식능에 미치는 영향

In vitro 실험 – Mancozeb이 비장세포의 증식능에 미치는 영향을 연구하기 위하여 *in vitro*에서 비장세포에 Mancozeb을 농도별로 가하고 T cell mitogen(Con A, PHA와 IL-2) 또는 B cell mitogen(LPS)를 가한 후 3일간 배양하여 비장세포 증식능도를 MTT assay로 측정된 결과를 Fig. 2와 3에 나타내었다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 Con A에 대한 비장세포 증식능에

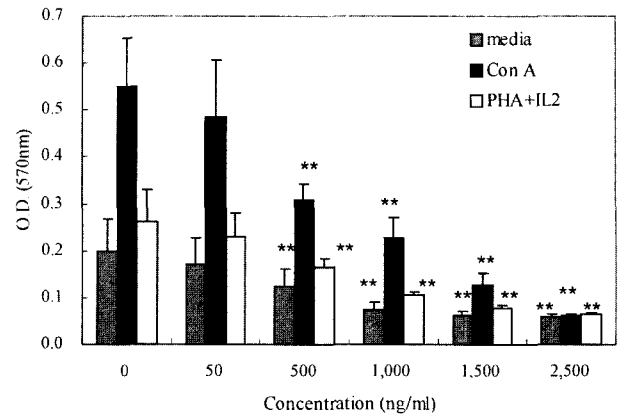


Fig. 2 – Effects of Mancozeb on the splenocyte proliferation induced by T cell mitogens *in vitro*. Splenocytes from normal mice were cultured with Mancozeb in the presence of Con A (2 μ g/ml), or PHA (5 ng/ml) with IL-2 (0.1 μ g/ml) for 3 days. Splenocytes proliferation was assessed by MTT assay. The results are expressed as the means \pm S.D. of 3 separate experiments (duplicate for experiment). Significant difference from control group (** $p < 0.01$).

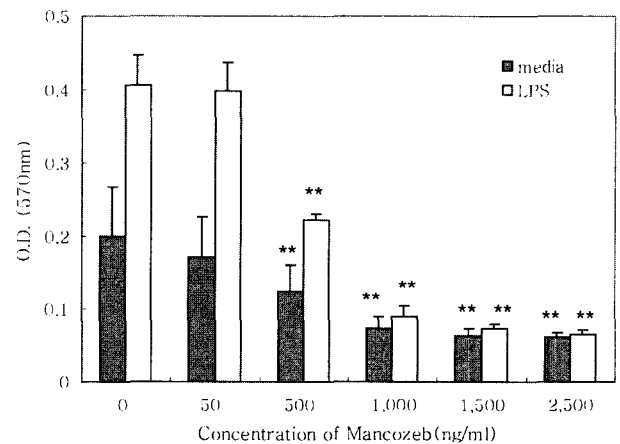


Fig. 3 – Effects of Mancozeb on the splenocyte proliferation induced by B cell mitogen *in vitro*. Splenocytes from normal mice were cultured with Mancozeb in the presence of LPS (50 μ g/ml) for 3 days. See other legends in Fig. 2.

대한 Mancozeb의 영향을 보면, Mancozeb을 가하지 않고 Con A만을 가한 대조군에 비해 농도의존적으로 유의성있게($p < 0.01$) 감소하였다. 또한 PHA와 T cell 성장인자인 IL-2를 Mancozeb과 동시에 처리하여 측정된 비장세포 증식능도 대조군에 비해 농도의존적으로 유의하게($p < 0.01$) 감소하였다. Colosio 등¹⁶⁾도 PHA를 투여하여 실험하였을 때 Mancozeb 100, 1,000 ng/ml에서 임파구 증식능을 강하게 억제한다는 보고를 하여 본 실험의 결과와 유사하였다. 이상의 결과로, *in vitro*에서 Mancozeb은 T cell mitogen인 Con A 또는 PHA와 IL-2에 대한 임파구 증식능을 강하게 억제하는 것으로 보인다.

LPS에 대한 비장세포 증식능(Fig. 3)은 50 ng/ml의 농도에서

는 대조군과 유사한 결과를 나타내었으나 500 ng/ml 이상의 농도에서는 유의성있는(p<0.01) 농도의존적인 감소를 보였다. 이상의 결과로, *in vitro*에서 LPS에 대한 세포증식능도 Mancozeb에 의해 억제되는 것으로 보인다.

ex vivo 실험 - 마우스에 Mancozeb을 1회 경구투여하여 급성노출 시키고 2일 후에 무균적으로 비장을 적출하여 조제한 비장세포액에 T cell mitogen 또는 B cell mitogen을 가하여 배양 후 비장세포 증식능을 측정하고 그 결과를 Fig. 4와 5에 나타내었다.

Con A에 대한 비장세포 증식능(Fig. 4)은 2,500 mg/kg 용량에

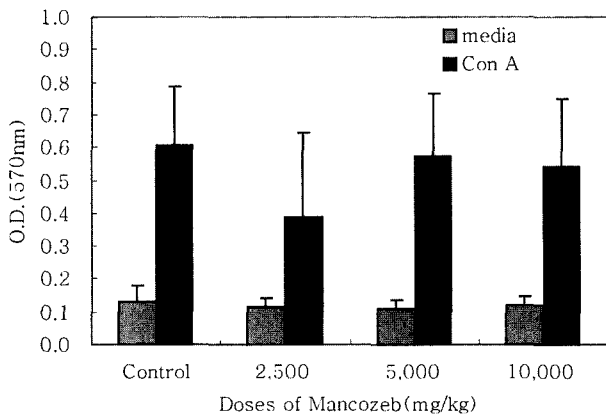


Fig. 4 - Con A-induced proliferation of splenocytes from the mice acutely administered Mancozeb. Mancozeb was orally administered to ICR mice (2,500, 5,000, 10,000 mg/kg) for one time. Mice were sacrificed on day 2 following administration of Mancozeb. Splenocytes were cultured with Con A (2 µg/ml) for 3 days. Splenocytes proliferation was assessed by MTT assay. The results are expressed as the means±S.D. of 3 separate experiments for 3 mice per treatment.

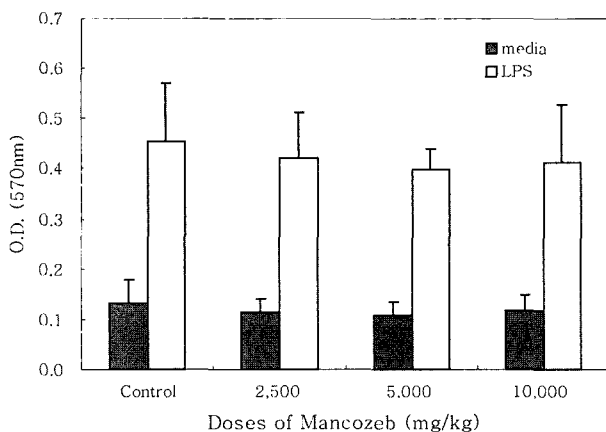


Fig. 5 - LPS-induced proliferation of splenocytes from the mice acutely administered Mancozeb. Splenocytes from the mice administered Mancozeb were cultured with LPS (50 µg/ml) for 3 days. See other legends in Fig. 4.

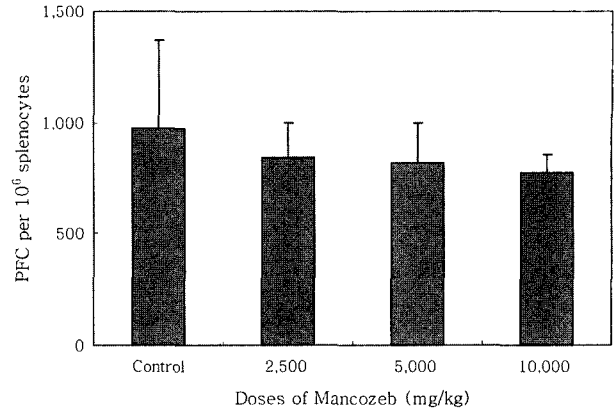


Fig. 6 - IgM-antibody forming response to SRBC in the mice acutely administered Mancozeb. Mice were i.p. immunized with SRBC-antigen. Mancozeb was orally administered to ICR mice (2,500, 5,000, 10,000 mg/kg) on the 2nd day after immunization for one time. The results are expressed as the means±S.D. of 3 separate experiments for 3 mice per treatment.

서 0.387의 흡광도를 나타내어 대조군(0.606)에 비해 감소되었으나 유의성은 없었으며 고농도에서는 오히려 큰 변화가 없었다.

Mancozeb을 2,500, 5,000, 10,000 mg/kg 용량으로 급성노출시킨 마우스 비장세포의 LPS에 대한 증식능(Fig. 5)은 대조군에 비해 유의성있는 차이를 나타내지 않아 Mancozeb의 급성노출이 B cell mitogen에 대한 증식능에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

비장세포 중 IgM PFC수에 미치는 영향

SRBC 항원주사 후 2일째에 Mancozeb을 용량별로 1회 경구 투여해서 급성노출시키고 4일째에 비장세포 중 IgM PFC수를 측정 한 결과는 Fig. 6과 같다. Mancozeb 2,500, 5,000, 10,000 mg/kg 투여군의 PFC수가 대조군에 비해 각각 13.3%, 15.9%, 20.2% 정도 감소되는 경향을 나타냈으나 유의성은 보이지 않았다.

결 론

내분비계 장애물질로 알려진 Mancozeb을 2,500, 5,000, 10,000 mg/kg 용량으로 1회 경구투여하여 급성노출시킨 후 면역 병리(체중, 장기무게, 비장세포수, 혈액학적 parameter), 비장세포 중 IgM 용혈반 형성세포수(PFC) 및 mitogen에 대한 비장세포 증식능에 미치는 영향을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다. Mancozeb에 급성노출된 경우 투여용량에 차이는 있으나 간장, 신장 및 비장의 중량비가 대조군에 비하여 증가되었고 백혈구 수는 현저히 감소되었으며 혈소판은 약하게 감소하는 경향을 보이고 고농도로 노출시 비장세포수가 유의적으로 감소하였다. Mancozeb을 경구적으로 급성노출시킨 비장세포의 증식능은 대

조균에 비해 큰 변화가 없었으나, *in vitro*에서 Mancozeb을 처리시에는 T cell mitogen(Con A, PHA와 IL-2)과 B cell mitogen(LPS)에 대한 비장세포 증식능은 농도의존적으로 저하되었다. SRBC 항원주사 후 2일째에 Mancozeb을 투여했을 때 비장세포중 IgM PFC수는 감소되는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다.

이상의 결과는 Mancozeb은 급성노출시 면역병리학적 parameter에 변화를 유발하고 비장세포 증식능 및 PFC수를 억제하는 경향을 보여 생체 면역계에 영향을 미칠 수 있음을 시사해 주고 있다.

감사의 말씀

본 연구는 2002년도 숙명여자대학교 교내연구비 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) 농약연보 : 농약공업협회 p. 62 (1999).
- 2) Hurley, P. M., Hill, R. N. and Whiting, R. J. : Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents. *Environmental Health Perspectives* **106**(8), 437 (1998).
- 3) Kackar, R., Srivastava, M. K. and Raizada, R. B. : Studies on rat thyroid after oral administration of mancozeb : morphological and biochemical evaluations. *J. Appl. Toxicol.* **17**(6), 369 (1997).
- 4) Trivedi, N., Kakkar, R., Srivastava, M. K., Mithal, A. and Raizada, R. B. : Effect of oral administration of fungicide-mancozeb on thyroid gland of rat. *Ind. J. Exp. Biol.* **31**, 564 (1993).
- 5) Mehrotra, N. K., Kumar, S. and Yogeshwer, S. : Enhancement of tumor-initiating activity of DMBA by the carbamate fungicide Mancozeb. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **44**, 39 (1990).
- 6) Varnagy, L., Budai, P., Molnar, E., Takacs, I. and Fejes, S. : One-generation reproduction toxicity study of mancozeb and lead acetate. *Meded. Rijksuniv. Gent. Fak. Landbouwk. Toegep. Biol. Wet.* **66**(2b), 873 (2001).
- 7) Szepvolgyi, J., Nagy, K., Sajgone, Vukan K., Regoly-Merei, A., Soos, K., Toth, K., Pinter, A. and Antal, M. : Subacute toxicological examination of Dithane M-45. *Fd. Chem. Toxic.* **27**(8), 531 (1989).
- 8) Harris, M. L., Chora, L., Bishop, C. A. and Bogart, J. P. : Species-and age-related differences in susceptibility to pesticide exposure for two Amphibians, *Rana pipiens*, and *Bufo americanus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **64**, 263 (2000).
- 9) Mahadevaswami, M. P., Jadaramkunti, U. C., Hiremath, M. B. and Kaliwal, B. : Effect of mancozeb on ovarian compensatory hypertrophy and biochemical constituents in hemicastrated albino rat. *Reproductive Toxicology* **14**, 127 (2000).
- 10) Baligar, P. N. and Kaliwal, B. B. : Induction of gonadal toxicity to female rats after chronic exposure to mancozeb. *Ind. Health* **39**(3), 235 (2001).
- 11) Bindali, B. B. and Kaliwal, B. B. : Anti-implantation effect of a carbamate fungicide mancozeb in albino mice. *Ind. Health* **40**(2), 191 (2002).
- 12) Kackar, R., Srivastava, M. K. and Raizada, R. B. : Induction of gonadal toxicity to male rats after chronic exposure to mancozeb. *Ind. Health* **35**(1), 104 (1997).
- 13) Belpoggi, F., Soffritti, M., Guarino, M., Lamvertini, L., Cevolani, D. and Maltoni, C. : Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of ethylene-bis-dithiocarbamate (Mancozeb) in rats. *Ann. N Y Acad. Sci.* **982**, 123 (2002).
- 14) Monis, B. and Valentich, M. A. : Promoting effects of mancozeb on pancreas of nitrosomethylurea-treated rats. *Carcinogenesis* **14**(5), 929 (1993).
- 15) Larsson, K. S., Arnander, C., Cekanova, E. and Kjellberg, M. : Studies of teratogenic effects of the dithiocarbamates Maneb, Mancozeb, and Propineb. *Teratology* **14**, 171 (1976).
- 16) Colosio, C., Barcellini, W., Maroni, M., Alcini, D., Bersani, M., Cavallo, D., Galli, A., Meroni, P., Pastorelli, R., Rozzardi, G. P., Soleo, L. and Foa, V. : Immunomodulatory effects of occupational exposure to Mancozeb. *Arch. Environ. Health* **51**(6), 445 (1996).
- 17) Rakich, D. R., Wataha, J. C., Lefebvre, C. A. and Weller, R. N. : Effects of dentin bonding agents on macrophage mitochondrial activity. *J. Endodon.* **24**, 528 (1998).
- 18) Dolye, A., Griffiths, J. B. and Newell, D. G. : Cell & Tissue Culture; Laboratory procedures, John Wiley & Sons Ltd., U.K. (1993).
- 19) Cunningham, A. and Szenberg, A. : Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells. *Immunol.* **14**, 599 (1968).
- 20) Deyo, J. A. and Kerkvliet, N. I. : Immunotoxicity of the pyrrolizidine alkaloid monocrotaline following subchronic administration to C57B1/6 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* **14**, 842 (1990).
- 21) Guest, I. C., Paik, N. W., Ryu, J. C., Park, J. S. and Chang, I. M. : Hematological values in normal laboratory mice (ICR and ddY strains). *Kor. J. Toxicol.* **7**, 47 (1991).