

마우스에 있어서 카드뮴의 免疫毒性에 미치는
人蔘 석유 Ether分劃의 影響(II)

• 安榮根 · 金正勳 · 李相根 · 黃甲洙

圓光大學校 藥學大學

Effect of Ginseng petroleum Ether Fraction on
the Immunotoxicity of Cadmium in Mice (II)

Young Keun Ahn, Jung Hoon Kim, Sang Keun Lee and Gab Soo Hwang

College of Pharmacy, Won Kwang University

ABSTRACT

Experiment was performed to investigate the immunotoxicity of cadmium administered orally and the effect of ginseng petroleum ether fraction on it.

Mice were given 3, 30, or 300 ppm cadmium as cadmium chloride orally in the drinking water and injection of ginseng petroleum ether fraction intraperitoneally for 4 weeks. Mice were sensitized and challenged with sheep red blood cells (S-RBC).

Immune response was evaluated by delayed type hypersensitivity (DTH), Rosette forming cell (RFC), phagocyte activity, and natural killer cell activity (NK cell activity).

In the present study, cadmium suppressed the cellular immunity. It also depressed phagocyte activity very significantly in all cadmium-administered groups, NK cell activity in the cadmium-300 ppm administered group.

Ginseng petroleum ether fraction showed restoring effect on the decrease in RFC by cadmium-administration.

Remarkably, it showed very significant restoring effect on the depression of phagocyte activity induced by cadmium-administration. From this result, we suppose that the anti-tumor effect of ginseng ether or petroleum ether extract, which has been reported by some other researchers, is mainly due to the increase of phagocyte activity by it's administration.

緒 論

環境汚染物質 中の 하나인 카드뮴(以下 Cd)의 免疫毒性에 對해서는 그동안 投與量, 投與經路, 投與期間 및 實驗動物等에 따른 여러 가지 相異한 結果들이 報告되어 왔다^{1~16)}. Koller 等은 Cd의 投與에 의해 抗體生産이 현저히 抑制되며 이와같은 抑制는 그후 數개월 동안이나 持續된다고 하였으나¹⁾ Bulter 等은 Cd가 lipopolysaccharide (LPS) 및 concanavalin A (Con A)에 의한 mitogenesis를 增強시킨다고 하였으며²⁾ Wesenberg 等은 rat에 있어서 Cd의 經口投與에 의해 抗體反應의 變化가 없었다고 報告하였다³⁾. 또한 mouse에 50 ppm의 Cd를 飲用시켜 3週동안 投與하였을 때 Blacley 等은 抗體生産이 抑制되었다고 하였으나⁴⁾ Chowdhury 等은 抗體生産이 增加되었다고 하였다⁵⁾.

한편 人蔘은 東洋의 panacea라 일컬어질 정도로 그 藥效가 매우 다양하다. Brekman 等은 人蔘이 adaptogen 效果가 있어서 非特異的 抵抗力을 亢進시키며 shigella菌의 endotoxin에 의한 적혈구 減少를 防止하거나 백혈구數를 增加시킨다고 報告하였고¹⁷⁾ Chang 等과 Yonezawa 等은 人蔘Ex.의 投與가 사람과 mouse에 있어 放射線 照射에 의한 血液學的 障害를 改善한다고 報告한 바 있으며^{19,20)} Lee 等은 人蔘의 Ether Ex. 抗腫瘍效果가 있음을 밝혔고²⁰⁾ Hwang 等은 in vitro에서 人蔘의 萃取Ether 分割이 白血病細胞에 細胞毒性(cytotoxicity)이 있음을 報告하였다²²⁾. 또한 Jie 等은 人蔘水浸液이 抗體生産을 亢進시켰으며 특히 NK cell의 活性에 현저한 影響을 미쳤다고 하였고²⁴⁾ 洪 等은 人蔘이 中금속 解毒作用이 있다고 하였다²⁵⁾.

以上에서 著者는 前報에서 Cd의 免疫反應에 미치는 影響 및 그에 對한 人蔘萃取 Ether 分割의 免疫修飾效果에 對하여 살펴본 데 이어 카드뮴의 細胞性 및 非特異的 免疫에 미치는 影響과 그에 對한 人蔘萃取 Ether 分割의 效果를 알아보고자 本 實驗을 實施하여 몇가지 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗動物 및 群의 分類

前報와 同一하였다.

2. 藥物의 調製 및 投與

前報와 同一하였다.

3. 抗原의 調製 및 免疫

前報와 同一하였다.

4. 足趾腫脹反應 測定(Foot pad swelling test)

遲延型 過敏反應(Delayed type hypersensitivity; 以下 DTH)를 測定하기 위하여 Reed 等이 記述한 方法에 準하여 다음과 같이 實施하였다²⁷⁾. 즉 1차 免疫 4日 後에 S-RBC 0.05 ml(1×10^8)를 mouse의 左側後肢足趾에 皮內注射하였다. 注射後 24時間이 經過한 後 腫脹의 두께를 0.01 mm 눈금 microcaliper로 測定하였으며 測定誤差를 避하기 위하여 2回 測定한 數值를 平均하였다. 足趾腫脹指數(F.P.S.I)는 다음과 같이 表示하였다.

Foot pad swelling index

$$= \frac{\text{腫脹 두께} - \text{正常 두께}}{\text{正常 두께}} \times 100$$

5. 脾臟細胞浮遊液의 調製²⁸⁾

脾臟을 mouse로부터 無菌的으로 摘出하여 minimum essential medium(MEM)에 조심스럽게 分쇄한 後 nylon mesh로 여과하여 死細胞를 제거하였으며 寒冷MEM으로 4°C에서 3回 遠心洗滌한 後 脾臟細胞가 2×10^7 cell/ml가 되도록 PBS에 浮遊하였다. 每 實驗 때마다 trypan blue exclusion method로 脾臟細胞의 生存率檢査를 實施하였다.

6. 脾臟細胞의 Rosette 形成細胞(RFC) 檢出

脾臟細胞의 Rosette 形成細胞의 檢査는 Garvey 等이 記述한 方法에 準하여 다음과 같이 實施하였다²⁹⁾. 즉 脾臟細胞 浮遊液 0.25 ml(5×10^6 cell)와

S-RBC 浮遊液 0.25 ml (5×10^7 cell) 를 試驗管에 넣고 混合하여 200×g에서 12分間 遠心分離한 後 이 浮遊液 1滴을 血球 計算板에 떨어뜨리고 RFC를 檢鏡 觀察하였다. 檢鏡時 脾臟細胞 中에서 S-RBC가 3個以上 부착한 細胞를 RFC로 判定하여 다음 公式에 準하여 計算하였다.

RFC(%)

$$= \frac{\text{Number of Rosette forming cells}}{\text{Total cells counted} \times \% \text{viability}} \times 100$$

7. NK cell의 活性檢査

前述한 方法으로 脾臟細胞를 分離하여 RPMI 1640 medium에 1×10^7 /ml의 濃度로 懸탁시켜 effector cell로서 利用하였다. 標的細胞(target cell)로는 YAC-I cell을 利用하였으며 Kiesseling 等의 方法으로 放射線 同位元素 sodium chromate (에너지 연구소에서 分讓)로 labeling한 後 2×10^5 cell/ml의 濃度로 浮遊시켜 使用하였다³⁰⁾. 이때 細胞生存率이 95% 以上 되도록 하였다. ^{51}Cr 이 표지된 標的細胞(2×10^5 cell/ml) 10 μl 와 effector cell (2×10^7 cell/ml) 100 μl 를 96 well tissue culture plate(Flow Lab., U.S.A)의 各 well에 混合한 後 37°C, 5% CO_2 incubator(Forma, U.S.A)에서 5時間 incubation하였다. 이 tissue culture plate를 500 g에서 10分間 遠心分離한 後, 상층액 100 μl 씩을 取하여 Gamma counter(Beckman, U.S.A)로 radioactivity를 測定하였다. 各 實驗은 3배수로 實施하였으며 % specific lysis를 다음의 식에 의하여 산출하였다.

% Specific lysis

$$= \frac{\text{c.p.m. in experiment} - \text{c.p.m. spontaneous release}}{\text{c.p.m. maximum release} - \text{c.p.m. spontaneous release}} \times 100$$

여기에서 c.p.m. in experiment는 實驗群의 상층액 100 μl 의 放射線量, c.p.m. spontaneous release는 effector cell이 들어있지 않고 target cell만 들어 있는 對照 sample의 상층액 100 μl 의 放射線量이고 c.p.m. maximum release는 標的細胞(1×10^4 cell in 100 μl)에 Triton x-100 1% 溶液 100 μl 를 加하여 얻었으며 표지된 방사능의 95% 이상이 되도록 하였다. c.p.m. spontaneous release

는 c.p.m. maximal release의 10% 以內가 되도록 하였다.

8. 大食細胞의 活性檢査

大食細胞의 活性은 Biozzi等이 記述한 方法에 準하여 다음과 같이 實施하였다³¹⁾. 즉 最終 藥物投與 2日 後에 rotring ink를 1% gelatin液으로 6倍 稀釋한 懸탁액을 調製하여 37°C에서 보관하였다. 다음에 mouse에 眼窩後部靜脈血管叢(retroorbital plexus)을 calibrated heparinized capillary tube로 穿刺하여 20 μl 의 血液을 10分, 20分, 30分간격으로 採取하고 採血 sample을 0.1% sodium carbonate 溶液 2 ml가 든 vial에 각각 옮겨서 赤血球가 溶解하도록 잘 混和하여 吸光度를 600 nm에서 測定하고 다음 公式에 準하여 計算하였다.

Corrected Phagocytic Index P

$$= \frac{W_B^C}{W_S^A + W_L^B} \times \sqrt[3]{K}$$

W_B^C ; 體重

W_S^A ; 脾臟의 重量

W_L^B ; 肝臟의 重量

K; phagocytic coefficient (測定濃度の 10倍數를 10 g로 轉換하고 時間에 對하여 plot한 graph 曲線)

9. 統計學的 分析

모든 資料는 mean \pm standard deviation으로 나타내었으며 有意性 檢定은 student's t-test로 행하였다.

實驗 結果

Mouse에 있어서 Cd의 免疫毒性 및 그에 미치는 人蔘석유 ether 分割의 影響을 알아 보고자 實施한 本 實驗의 結果는 다음과 같다.

1. 細胞性 免疫에 미치는 影響

1) 遲延型 過敏反應(DTH)

DTH의 結果는 Table 1에서 보는 바와 같이 足

Table 1. DTH reaction by cadmium and the effect of ginseng petroleum ether fraction on it in mice.

Group	F.P.S.I.
Normal	8.63±3.23
Cd 3 ppm	6.02±3.25
Cd 3 ppm + Ginseng fr.	4.82±2.17
Cd 30 ppm	4.88±2.92*
Cd 30 ppm + Ginseng fr.	4.72±2.32
Cd 300 ppm	3.48±2.69**
Cd 300 ppm + Ginseng fr.	4.69±2.17
Ginseng fr.	4.56±2.90**

Foot pad swelling was measured after intradermal challenge of 1×10^8 S-RBC/ml.

F.P.S.I. =

$$\frac{\text{thickness of foot pad after challenge} - \text{thickness of foot pad before challenge}}{\text{thickness of foot pad before challenge}} \times 100$$

DTH reaction was measured 24 hours after challenge.

Each value is the mean±S.D. of 8~10 mice.

Significant difference from normal group.

(*p<0.05, **p<0.01)

Significant difference from each Cd control group.

(*p<0.05, **p<0.01)

蹠腫脹指數(F.P.S.I)가 正常群에서 8.63±3.23인데 比하여 Cd 3 ppm 投與群에서는 減少現象을 보였으나 有意性은 없었고 Cd 30 ppm 投與群에서는 4.88±2.92로 有意性 있게 減少하였으며 Cd 300 ppm 投與群에서는 매우 有意性 있게 減少하였다. 또한 人蔘석유 ether 投與群에서도 正常群에 比해 매우 有意性 있게 減少하였다. 반면 各 Cd 投與群에 比해 Cd 및 人蔘석유 ether 병용 投與群에서는 有意性이 없었다.

2) 脾臟細胞의 Rosette 形成細胞(RFC)

各 群에서 觀察한 RFC를 %로 換算한 結果는 Table 2에서 보는 바와 같이 正常群이 9.88±1.47%, 7.12±1.66%, 6.48±1.45%로 容량 의존적으로 매우 有意性 있게 減少하였고 各 Cd 投與群에 比해 Cd 3 ppm 및 人蔘석유 ether 分割 병용投與群과 Cd 30 ppm 및 人蔘석유 ether 分割 병용投與群에서 有意性있게 增加하였으며 Cd 300 ppm 및 人蔘석유 ether 分割 병용投與群에서는 增加현상을 보였으나 有意性은 없었다.

Table 2. RFC by cadmium and the effect of ginseng petroleum ether fraction on it in mice.

Group	RFC (%)
Normal	9.88±1.47
Cd 3 ppm	8.33±0.43**
Cd 3 ppm + Ginseng fr.	9.30±1.11☆
Cd 30 ppm	7.12±1.66**
Cd 30 ppm + Ginseng fr.	8.75±1.60☆
Cd 300 ppm	6.48±1.45**
Cd 300 ppm + Ginseng fr.	7.54±1.25
Ginseng fr.	10.58±1.25

Mice were challenged with 1×10^8 S-RBC/ml 4 days after sensitization.

On the 5th day. RFC was assayed.

RFC (%) =

$$\frac{\text{Number of Rosette forming cells}}{\text{Total cell counted} \times \text{Viability} (\%)} \times 100$$

Each value is the mean±S.D. of 8~10 mice.

Significant difference from normal group.

(*p<0.05, **p<0.01)

Significant difference from each Cd control group.

(☆p<0.05)

2. NK cell(Natural killer cell)의 活性에 미치는 影響

NK cell의 活性을 나타내는 尺度인 specific lysis는 正常群에는 16.67±2.78%인데 比하여 Cd 3 ppm 投與群에서는 14.08±4.95%, Cd 30 ppm 投與群에서는 14.02±3.77%로 감소현상은 보였으나 有意性은 없었고 Cd 300 ppm 投與群에서는 6.94±3.11%로 매우 有意性있게 減少하였다. 한편 各 Cd 投與群에 比해 Cd 및 人蔘석유 ether 分割 병용投與群에서는 전반적으로 增加현상을 보였으나 有意性은 없었다(Table 3).

3. 大食細胞의 活性에 미치는 影響

Table 4에서 보는 바와 같이 phagocytic index는 正常群에서 8.17±0.70인데 比해 Cd 投與群들에서는 각각 2.70±0.43, 2.18±0.65, 2.12±0.43으로 매우 현저히 減少하였고 各 Cd 投與群에 比해 Cd 및 人蔘석유 ether 分割 병용投與群에서 매우 현저하게 增加하였다.

Table 3. NK cell activity by cadmium and the effect of ginseng petroleum ether fraction on it in mice.

Group	% Specific lysis of ⁵¹ Cr-labelled target cell Effector cell: Target cell=100:1
Normal	16.67±2.78
Cd 3 ppm	14.08±4.95
Cd 3 ppm + Ginseng fr.	14.96±2.88
Cd 30 ppm	14.02±3.77
Cd 30 ppm + Ginseng fr.	14.95±3.86
Cd 300 ppm	6.94±3.11**
Cd 300 ppm + Ginseng fr.	9.03±0.70
Ginseng fr.	17.87±2.23

% Specific lysis =

$$\frac{\text{Test culture counts} - \text{Spontaneous counts}}{\text{Water lysis counts} - \text{Spontaneous counts}} \times 100$$

Each value is the mean±S.D. of 8~10 mice.

Significant difference from normal group.

(☆p<0.05)

Significant difference from each Cd control group.

(*p<0.05, **p<0.01)

Table 4. Phagocyte activity by cadmium and the effect of ginseng petroleum ether fraction on it in mice.

Group	Phagocytic index
Normal	8.17±0.70
Cd 3 ppm	2.70±0.43**
Cd 3 ppm + Ginseng fr.	6.73±1.25☆☆
Cd 30 ppm	2.18±0.65**
Cd 30 ppm + Ginseng fr.	4.31±0.90☆☆
Cd 300 ppm	2.12±0.43**
Cd 300 ppm + Ginseng fr.	3.49±0.98☆☆
Ginseng fr.	9.81±1.98*

Phagocytic index is a constant obtained from a formula relating the cube root of K of the body weight to the weight of the liver and spleen.

Each value is the mean±S.D. of 8~10 mice.

Significant difference from normal group.

(☆p<0.05)

Significant difference from each Cd control group.

(*p<0.05, **p<0.01)

考 察

앞에서 살펴 보았듯이 그 免疫毒성에 대하여 明確

히 해명되어 있지 않은 Cd를 mouse에 飲用시켜 投與하였을 때 細胞性 및 非特異的 免疫에 미치는 影響과 그에 對한 人蔘석유 ether 分割이 免疫 效果가 기대되어 實施한 本 實驗의 結果에 對한 考察은 다음과 같다.

1. Cd가 免疫反應에 미치는 影響

1) 細胞性 免疫에 對한 影響

DTH反應은 正常群에 比하여 Cd 3 ppm 投與群에서 低下現象을 보였으나 유의성은 없었고 Cd 30 ppm 投與群과 Cd 300 ppm 投與群에서는 현저히 低下하였다. 이는 mouse에서 Cd 投與에 의한 DTH의 變化가 없었음을 報告한 Peter等과 相異하나⁷⁾ Fujimaki 등의 報告와는 一致하며⁸⁾ Fujimaki 등은 Cook 등이 報告한 Cd 投與 時 rat에 있어서의 bacterial challenge에 對한 感受性 增加는 이같은 DTH의 低下에 크게 起因할 것으로 推定하였다⁹⁾. 本 實驗에서 Cd의 cation들은 macrophage 表面의 negative charge와 direct jonic 結合을 함으로써 macrophage의 表面負荷(surface charge)를 減少시켜 macrophage와 target cell과의 相互作用을 阻害하여 macrophage의 運動性 및 lymphokine의 生成을 抑制하고 또한 macrophage에 對한 macrophage inhibition factor(MIF)의 作用을 阻害하였을 것으로 생각된다^{10,11)}.

脾臟細胞의 RFC는 正常群에 比해 Cd 投與群들에서 用量 依存的으로 매우 有意性있게 減少하였다. 이에 對해서는 Cd의 T cell에 對한 細胞障害 作用 및 앞에서 언급된 Cd의 surface mediated cellular interaction에 對한 阻害를 생각할 수 있으며 Cd 투여에 의한 cell redistribution도 考慮되어야 할 것이다^{10,11,12)}.

以上에서 Cd는 mouse에 있어 強力한 細胞性免疫 抑制作用을 가지고 있음을 알 수 있으며 이러한 Cd의 T cell 및 macrophage 活性에 對한 抑制는 Cd가 cellular interaction 등의 阻害를 통하여 lymphocyte blastogenesis에 많은 影響을 끼칠 수 있음을 示唆하는 바 前報의 PFC와 HA titer 및 HY titer의 減少로부터 알 수 있는 Cd 투여에 의한

體液性免疫의 抑制도 이와 같은 Cd의 T cell 및 macrophage 活性에 對한 抑制作用에 크게 起因할 것으로 思料되며 또한 Klause 등이 報告한 Cd에 의한 抗原-非特異的 mediator인 T-cell-activating factor(TAF)의 缺陷的 機能(defective function)을 注目해야 할 것이다¹⁴⁾.

2) 非特異的 免疫에 對한 影響

大食細胞(phagocyte)의 活性은 全 Cd 投與群에서 매우 有意성있게 抑制되었다. 이는 Cd에 의한 respiratory burst의 depression을 報告한 Loose 등과 一致하며 Loose 등은 Cd 投與에 의해 myosin 및 cell membrane의 ATPase 活性이 抑制된다는 다른 報告로 미루어 Cd가 endocytosis를 擔當하는 大食細胞의 microtubule assembly 등에 障害作用을 나타낸 것으로 推定하였다¹⁵⁾. 이와함께 Kir-emidjian 등이 electrophoretic motility 測定 등을 通하여 밝힌 Cd에 의한 surface-mediated cellular interaction의 阻害에 의해 일어날 수 있는 抗原의 take-up 阻止 등이 또한 크게 影響을 끼칠 수 있을 것이며^{11,13)}, 아울러 opsonin에 對한 Cd의 抑制作用도 檢討되어야 할 것이다¹⁶⁾.

NK cell의 活性은 正常群에 비해 Cd 3 ppm 投與群 및 Cd 30 ppm 投與群에서 抑制現象을 보였으나 有意성은 없었지만 Cd 300 ppm 投與群에서는 그 活性이 매우 有意성있게 抑制되었다. 따라서 高用量의 Cd 投與는 NK cell의 活性에 현저한 抑制作用이 있음을 알 수 있다.

2. Cd의 免疫毒性에 미치는 人蔘석유 Ether 分割의 影響

1) 細胞性 免疫에 對한 影響

Cd 投與에 의하여 減少된 脾臟細胞의 RFC는 人蔘석유 ether 分割에 의해 Cd 3 ppm 및 人蔘석유 ether 分割병용投與群과 Cd 30 ppm 및 人蔘석유 ether 分割병용投與群에서 有意성있게 回復되었고, Cd 300 ppm 및 人蔘석유 ether 分割병용投與群에서는 回復現象을 보였으나 有意성은 없었다.

DTH는 人蔘석유 ether 分割단독投與群에서는 正常群에 비해 매우 有意성있게 低下하였으나 Cd와

人蔘석유 ether 分割병용投與에 의하여 各 Cd 投與群에서의 DTH 低下에서는 有意한 變化가 없었다. 이러한 DTH 結果를 RFC 結果와 함께 생각할 때 人蔘석유 ether 分割은 Cd의 surface mediated cellular interaction 등에 對하여 어느정도 回復效果가 있으나 同時에 人蔘석유 ether 分割 自體에 lymphokine의 生成 또는 macrophage의 活性 등을 抑制 또는 低下하는 또다른 機轉이 있을 것으로 推定할 수 있으며 이에 對해서는 앞으로 많은 研究가 필요할 것으로 사료된다.

2) 比特異的 免疫에 對한 影響

NK cell의 活性은 Cd 投與群에 비해 Cd+人蔘석유 ether 分割 병용投與群에서 全體적으로 增加現象을 보였으나 有意성은 없었다.

大食細胞의 活性에 있어서는 人蔘석유 ether 分割이 Cd 投與에 의하여 현저히 低下된 大食細胞 活性에 매우 注目할만한 增強效果를 나타내었다. 이는 人蔘석유 ether 分割이 Cd cation들에 의한 大食細胞 表面負荷(surface charge)의 減少를 阻止함으로써 그와 같은 表面負荷의 減少에 의해 야기될 수 있는 antigen take-up의 阻害, membrane fluidity의 變化, microtubule assembly에 對한 障害作用 및 운동성(motility)의 低下 등에 對하여 현저한 回復效果를 나타낸 것으로 볼 수 있다^{10,12,15)}. 따라서 人蔘수침엑스를 mouse에 經口投與하였을 때 NK cell의 活性이 增加되었다고 한 Jie 등의 報告를 본 實驗의 結果와 함께 생각할 때²⁴⁾ 人蔘水浸엑스는 NK cell의 活性에 對한 增加效果가 크고 反面 人蔘석유 ether 分割은 大食細胞 活性에 對한 增加效果가 큰 것으로 생각할 수 있으며 Lee 등 및 Hwang 등이 報告한 바 있는^{21,22)} 人蔘 ether 抽出物 또는 人蔘석유 ether 分割의 抗癌作用(Anti-tumor action)은 그것들이 T cell이나 NK cell의 活性에 미치는 影響보다는 大食細胞 活性에 미치는 影響이 크게 作用할 것으로 推定된다.

結 論

Mouse에 cadmium chloride를 飲水에 溶解하여

4週동안 投與하였을 때 카드뮴의 細胞性 및 非特異的 免疫反應에 미치는 影響과 그에 對한 人蔘석유 ether 分割의 效果는 다음과 같다.

1. 카드뮴은 全般的으로 細胞性 免疫을 抑制시켰다.
2. 카드뮴은 大食細胞의 活性을 현저히 低下시켰으며 NK cell의 活性은 高用量(300 ppm) 投與群에서 현저히 低下되었다.
3. 人蔘석유 ether 分割은 카드뮴에 의한 RFC 減少에 對하여 回復效果를 나타내었다.
4. 人蔘석유 ether 分割은 카드뮴에 의한 大食細胞 活性의 抑制에 對하여 매우 有意한 回復效果를 나타내었다.

REFERENCES

1. L.D. Koller, Jerry H. Exon, Judith G. Roan: Ant body suppression by cadmium. *Arch. Environ. Health*, **30**, 598~601 (1975)
2. Nancy J. Balter, and Irving Gray: Taumancement of mitogen responsiveness in mice exposed to low concentrations of cadmium in drinking water. *Journal of Washington Academy of Science*, **75**, No. 4, 101~110 (1985)
3. Gro B. Ramsten, Wesenberg and Finn Wesenberg: Effect of cadmium on the immune response in rats. *Environ. Research*, **31**, 413~419 (1983)
4. B.R. Blakley: The effect of cadmium chloride on the immune response in mice. *Can. J. Comp. Med.*, **49**, 104~108 (1985)
5. Badrul Alam Chowdhury, James K. Friel, and Ranjin Enmar Chandra: Cadmium-induced immunopathology is prevented by zinc administration in mice. *J. Nutrition*, **117**, 1788~1794 (1987)
6. Motoyasu Ohsawa, Kazue Masuko-Sato, Kazuko Takahashi, and Fuminori Otsuka: Strain differences in cadmium-mediated suppression of lymphocyte proliferation in mice. *Toxicol. and Applied Pharmacology*, **84**, 379~388 (1986)
7. Peter T. Thomas, Helen V. Ratajezac, Catherine Aranyi, Robert Gibbons and James D. Fenters: Evaluation of host resistance and immune function in cadmium-exposed mice. *Toxicol. and Applied Pharmacology*, **80**, 446~456 (1985)
8. Hidekazu Fujimaki, Fujio Shimiza, Ryok lawamnra, and Kentaro Kubota: Inhibition of delayed hypersensitivity reaction in mice by cadmium. *Toxicology Letters*, **19**, 241~245 (1983)
9. J.A. Cook, E.O. Hoffmann, and N.R. Di Luzio: Influence of lead and cadmium on the susceptibility of rats to bacterial challenge. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **150**, 741~747 (1985)
10. Lidia Kiremidjian-Schumacher, G. Stotzky, Vinal Likhite, Jack Schwartz, and Robert A. Dickstein: Influence of cadmium, lead, and zinc on the ability of sensitized guinea pig lymphocytes to interact with specific antigen and to produce lymphokine. *Environ. Research*, **21**, 96~105 (1981)
11. L. Kiremidjian Schmacher, G. Stotzky, Robert A. Dickstein and Jack Schwartz: Influence of cadmium, lead, and zinc on the ability of guinea pig macrophages to interact with macrophage migration inhibition factor. *Environ. Research*, **24**, 106~116 (1981)
12. Motoyasu Ohsawa, and Kiyoyuki Kawan: Cytological shift in lymphocytes induced by cadmium in mice and rats. *Environ. Research*, **24**, 192~200 (1981)
13. D.J. Nelson, L. Kiremidjian-Schumacher, and G. Stotzky: Effects of cadmium, lead, and zinc on macrophage-mediated cytotoxicity toward tumor cells. *Environ. Res.*, **28**, 154~163 (1982)
14. Klaus Bendtzen: Induction of antigen-specific lymphocyte unresponsiveness in vitro: Possible role of divalent cations and defective function of human T-cell-activating factor (TAF). *Cellular Immunology*, **66**, 152~163 (1982)

15. Leland D. Loose, Jay B. Silkworth, and Diane Warrington: Cadmium-induced depression of the respiratory burst in mouse pulmonary alveolar macrophages, peritoneal macrophages, and polymorphonuclear neutrophils. *Biochem. and Biophysical Research Communication*. **79**, No. 1, 326~332 (1977)
16. L.D.Kofler, and Judith G. Roan: Effect of lead and cadmium on mouse peritoneal macrophages. *Journal of the reticuloendothelial society*. **21**, 7~12 (1977)
17. Dug Ryong Hahn.: Physiological actions of Ginseng. *Korean Ginseng Science Symposium, Korean Soc. of Pharmacology*, 141~168 (1974)
18. H.W. Yeung, Effect of Ginseng on the immune responses to influenza virus infection. *Proc. of the International Ginseng Symposium*, 245~249 (1980)
19. Y.S. Chang, C.I. Park, and H.I. Noh: The effect of Panax Ginseng on the postoperative radiation complication in cervical cancer patients. *Proc. of the 3rd International Ginseng Symposium*, 197~205 (1980)
20. M. Yonezawa, A. Takeda, and N. Katoh: Restoration of radiation injure by Ginseng extract. *Proc. of the 3rd International Ginseng Symposium*, 17~20 (1980)
21. K.D. Lee, and R.P. Huemer: Antitumoral activity of panax ginseng extracts. *Japan J. Pharmacol.*, **21**, 229~302 (1971)
22. W.I. Hwang, and S.K. Oh: A study on the anti-cancer activities of lipid soluble ginseng extract and ginseng sapon in derivertives agaist some cancer cells. *Korean J. Ginseng Science*, **8**, No. 2, 153~156 (1984)
23. T.K. Yun, Y.S. Yun, and I.W. Han: An experimental study on tumor inhibitory effect of red ginseng in mice and rats exposed to various chemical carcinogens. *Pro of the 3rd International Ginseng Symposium*, 87~113 (1980)
24. Y.H. Jie, S. Cammisuli, and M. Baggiolini: Immunomodulatory effects of panax ginseng C.A. Meyer in the mouse. *Agents and Actions* **15**, 3/4, 386~391 (1984)
25. Sa Ack Hong and Hang Yong Cho: Phamacological actions of ginseng. *Korean Ginseng Science Symposium, Korean Soc. of Pharmacognosy*, 113~139 (1974)
26. Y.Y. Kim: Studies on the detoxicating effect of water extracts of Korean ginseng radix in lead poisoning. Choongahang Univ. 1983 treatise collection 27, 183~194 (1983)
27. N.D. Reed, P.K. Crowl, et al.: Use of mast cell deficient mice to study host parasite relationships in immuno-deficient animals. Bssordet ed. Korgex Baselip. 184 (1984)
28. T.Y. Ha and H.K. Rhee: Effect of inosiplex on cellular and humoral immune response. *J. Kor. Soc. Microbiol.*, **1**, 57 (1981)
29. J.S. Garvey, N.E. Cremer, D.H. Sussclorf: *Methods in immunology*. 3rd, 449 (1980)
30. Kiesseling, et al.: *Eur. J. Immunol.*, **5**, 112 (1975)
31. G. Boizzi, B. Benacerraf, C. Stiffel, and B.N. Halpern: Etude quantitative dulactivite granuloplexique du system reticuloendothelial chez la souris. *C. R. Soc. Biol. Paris*, **148**, 431 (1954)