

카드뮴投與가 Balb/c 마우스의 免疫反應에 미치는 影響

염정호 · 강현철 · 고대하
전북대학교 의과대학 예방의학교실

Effect of Cadmium Chloride on the Immune Responses in Balb/c Mouse

Jung Ho Youm, Hyon Chul Kang and Dai Ha Koh
*Department of Preventive Medicine and Public Health
Chonbuk National University Medical School*

ABSTRACT

This study was designed to investigate the antibody production to sheep red blood cells(SRBC) and proliferation of mitogen-stimulated spleen cells in Balb/c mice which received cadmium chloride.

The mice were divided into three independent groups which were one control and two experimental groups by the cadmium treatment or not. No specific treatment was done for the control group. One of two experimental groups, which is called 'pre-treatment group' in this paper, was subcutaneously injected with low dose of cadmium chloride(0.5 mg/kg/day) for 5 consecutive days before the primary SRBC immunization. The other called 'non-pretreatment group' was only pre-treated with normal saline. Both experimental groups were intraperitoneally injected with high dose of cadmium chloride(5 mg/kg) 8 hours before the primary immunization.

Mice were intraperitoneally immunized twice with 2% SRBC suspension containing 10^8 cells.

The results obtained were as follows,

1. The PFG responses to SRBC were significantly increased in two experimental groups, cadmium pretreatment and non-pretreatment compared with that of control group($p < 0.05$).
2. The total antibody titers to SRBC in cadmium treated groups were similar to that of control group, but titers of IgG antibody were significantly elevated($p < 0.01$).
3. The proliferation response of spleen lymphocytes to various mitogens was suppressed in proportion to the concentration of cadmium and the degree of cadmium accumulation in liver was increased in the cadmium treated groups.

These results suggest that cadmium chloride could affect on mouse immune response, especially its cell mediated immune response could be decreased while its humoral immune response could be increased, which may not be influenced by the administration methods or pretreatment of cadmium to mouse.

Keywords : Cadmium, Immune response

I. 서 론

카드뮴은 1817년 아연광석에서 처음으로 발견된 이래 전기도금, 도료, 플라스틱의 안정제, 합금, 축전지 등의 여러 분야에서 광범위하게 사용되고 있으며, 산업적인 이용이 급속히 증가함에 따라 토양

및 수질오염을 통해 각종 농·축산물에서 그 잔여량이 검출된다(Christensen과 Olson, 1957; Flick 등, 1971; Fleisher 등, 1974; Goyer, 1991). 이같은 사실은 인류가 생태계 또는 특정 작업환경으로부터 끊임없이 카드뮴에 폭로될 개연성은 물론 중독에 대한 잠재적인 위험을 시사하고 있다(Hammond와

Foulkes, 1986).

일반적으로 카드뮴은 신기능장애, 간조직손상, 중추신경장애, 고혈압, 골연화증 등을 일으키며, 특히 폐암환자들에 있어서는 조직내 카드뮴의 농도가 높은 것으로 보고되어 있다(Axeleson 등, 1968; Dudley 등, 1982; Goyer, 1991; Newman-Taylor, 1992). 지금까지 카드뮴중독에 대한 연구는 간장이나 신장내의 축적에 따른 조직·병리학적 변화, 조직내 항산화효소의 활성변화, 생화학적 대사의 변화, 생체내 유입 후의 약물역동학적 특성 및 독성에 대한 방어인자 등에 관한 연구에 집중되어 왔다(Stacey와 Klaassen, 1981; Dudley 등, 1982; Goering과 Klaassen, 1984; 안 등, 1991). 특히 저농도의 카드뮴에 노출되었던 개체가 간장에서 metallothionein을 합성함으로써 차후 독성농도에 달하는 카드뮴의 체내 유입에도 일정 범위내의 방어능력을 갖는다는 보고(Cherian과 Goyer, 1979; Onosaka 등, 1984; Jin 등, 1987; Sendelbach 등, 1989)들은 카드뮴독성발현에 대한 내적 방어인자의 존재를 인정하는 것들로서 카드뮴중독과 관련한 모든 동물실험에서 고려되어야 할 중요한 사항이다.

카드뮴이 생체 면역계에 미치는 영향에 대해 실험조건에 따라 체액성 면역 및 세포성 면역을 억제 또는 항진시킬 수 있으며(Koller, 1973, 1979; Koller 등, 1975, 1976), 만성적으로 경구투여한 경우 세포성 면역반응은 억제시키나 면역적혈구에 대한 체액성 면역반응에는 영향을 미치지 않는다는 보고가 있다(Müller 등, 1978). 그러나 일반적으로 실험동물의 종류와 카드뮴 투여경로 및 방법, 투여기간 등에 따라 그 결과가 달라지며(Wesenberg와 Wesenberg, 1983), 실험에 사용된 mitogen에 대한 면역세포의 증식반응이 다양하게 관찰되는 등(Müller 등, 1978; Gaworski와 Sharma, 1978), 카드뮴이 면역반응에 미치는 영향에 관해서는 논란의 여지가 있다.

본 연구에서는 저농도의 카드뮴으로 전처리한 후 고농도의 카드뮴을 노출시킨 마우스군과 전처리없이 고농도로 카드뮴을 투여한 마우스군으로 실험군을 구분하였다. 각각의 실험군에 대해 카드뮴이 면역반응에 미치는 영향을 보다 통제된 조건에서 관찰하고자 사육환경, 카드뮴의 투여방법과 시간 등을 동일한 환경으로 유지하여 간장조직내의 카드뮴농도를 측정하고, 이에 따른 면역반응을 관찰하였다. 또한 동일 실험개체로부터 분리한 비장세포에 대해서는 카드뮴의 존재하에 시험관내에서 배양, mitogen의 자극하에서 증식능을 측정하여 그 결과를 대조군의 것과 비교 이에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물의 처치

한국화학연구소로부터 구입하여 수돗물과 펠릿사료(제일사료주식회사, 대전)를 사용하여 계대사육중인 4~6주령의 Balb/c마우스를 실험에 사용하였다. 카드뮴을 투여받은 실험군은 저농도(0.5 mg/kg/day)의 카드뮴으로 전처리(pretreatment)를 시행한 군과 이를 시행하지 않은 군(non-pretreatment group)으로 구분하였기 때문에 실제 실험과정에서는 1개의 대조군을 포함, 3개군의 실험동물을 각각 30마리씩 별도의 cage에서 사육하였다. 이들을 면역시기별로 4개의 시간대마다 채혈 및 치사용으로 각각 5마리씩을 임의선택하여 실험에 사용하였다.

2개 실험군중 전처리군(pretreatment group)은 면역적혈구로 면역하기 1주일전부터 카드뮴을 저농도(0.5 mg/kg/day)로 5회 피하주사하고, 면역당일에는 고농도(5 mg/kg)의 카드뮴을 1회 복강내로 주사하였다. 카드뮴투여가 끝난 8시간 후에 면역적혈구(10^8 cells/0.2 ml)로써 1차 면역하고, 7일째 2차 면역하였다. 비전처리군(non-pretreatment group)은 저농도전처리 없이, 면역당일에만 카드뮴을 1회에 걸쳐 5 mg/kg의 농도로 복강주사하고, 역시 8시간 후에 1차 면역하고 7일째 2차 면역하였다. 대조군의 경우는 어떠한 카드뮴처리도 없었으며, 면역적혈구에 의한 면역은 실험군과 같은 조건으로 시행하였다.

2. 비장세포의 분리 및 처리

카드뮴투여후 3, 4일째와 9, 10일째에 각 군의 마우스를 ether로 마취시켜 심천자로서 채혈하였고, 경추탈골로 희생시킨 후 무균적으로 비장을 적출하였다. 그 후 비장을 차가운 RPMI 1640(GIBCO) 배지에서 teasing한 다음, 실온에서 2분 동안 정착시켜 바닥에 가라앉은 세포피를 제외한 세포부유액을 얻었다. 이를 RPMI 1640 배지로 1회 원심 세척한 후 얼음으로 냉각시킨 저장액으로 적혈구를 파괴시키고(Metcalf 등, 1986), 이를 다시 RPMI 1640배지로 3회 원심세척한 후 plaque형성세포의 관찰에 사용하였으며, mitogen에 대한 증식반응에 쓰일 세포도 상기와 같은 방법으로 얻었다.

3. Plaque형성세포의 관찰

SRBC에 대한 plaque형성세포의 관찰은 Cunningham과 Szenberg(1968)의 방법을 참조하여 실시하였다. 비장세포부유액(1×10^6 cells/ml), 20% SRBC, 보체로서 guinea pig혈청(33%)을 각각 동량

으로 혼합한 결과액을 slide glass에 양면테이프를 붙이고 22×22 mm coverglass를 덮어 만든 2개의 chamber에 각각 넣고 37°C에서 1시간 배양한 후 4°C에서 반응을 정지시켰으며 형성된 plaque를 광학현미경하에서 관찰하였다.

또한 IgG(7S)에 대한 plaque는 rabbit anti-mouse IgG(Serotec, Kidington, England) 1/500 희석액을 SRBC와 먼저 반응시킨 후 실험에 사용하여 형성된 plaque수를 계수하였다.

4. 면양적혈구(sheep red blood cell; SRBC)에 대한 항체반응

마우스를 SRBC로 감염시킨 후 3, 4, 9, 10일째 채혈하여 분리한 혈청을 56°C에서 30분간 보체를 비활성화시킨 다음 Eidinger와 Pross 등(1967)의 방법에 따라 항체가를 측정하였다. 즉, U자형 microtitration plate(Flow lab, Virginia)의 각 well에 비활성화시킨 혈청을 생리식염수를 이용하여 2배 계열 희석하고 여기에 0.5% SRBC용액 점적하고 37°C에서 1시간 반응시킨 후, 응집을 일으킨 혈청의 최대 희석도를 항체가로 측정하였다. IgG항체가를 측정하기 위해서는 IgG가 2-mercaptoethanol(2-ME)에 내성을 가지는 성질을 이용하여 혈청을 2-ME(0.1M)로 처리하였다.

5. 림프구 증식반응

카드뮴치지에 따른 림프구증식반응을 flat-bottomed 96 well plate(Flow Lab, Virginia)를 이용하여 정상 마우스의 비장세포를 1×10^6 cells/ml로 부유시켜 3배수로 배양하였다. 예비실험으로 정한 적정농도의 LPS(8 μ g/ml, Sigma), PWM(1 μ g/ml, Sigma) 또는 Con-A(1 μ g/ml, Sigma) 등으로 비장세포(2×10^5 cells/200 μ l/well)의 증식을 유도하였다.

세포배양은 10% 우태아혈청함유 RPMI-1640배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 3일간 실시하였다. 배양의 전기간에 걸쳐 여러 농도의 카드뮴을 비장세포에 노출시켰으며, 세포를 수거하기 18시간 전에 well당 0.5 μ Ci의 ³H-thymidine(³H-TdR, specific activity 2.0 Ci/mmol, New England Nuclear, MA)을 첨가하였다. 배양이 끝난 세포들은 세포수확기를 이용하여 회분하였고 β -counter(Packard Tri-cab 460c, IL)를 이용하여 측정하였다(Gaworski와 Sharma, 1978).

6. 조직내 카드뮴 측정

조직내 카드뮴측정은 실험과정에 따라 채취한 간

장을 생리식염수로 세척한 후 일본약학회편(1983)의 위생시험법과 환경청(1983)의 환경오염공정시험법에 준용하여 DDTC-MIBK로 카드뮴을 추출한 후 원자흡광광도계(IL, 551)로 측정하였다.

7. 통계처리

대조군과 각각의 실험군에서 관찰된 plaque형성세포수, 면양적혈구에 대한 항체생산능, 비장세포의 증식능 및 간장내 카드뮴 측정농도에 대한 군간의 차이는 Student's t-test로써 검정하였다.

III. 결 과

1. 카드뮴이 Plaque 형성세포수에 미치는 영향

비장림프구의 SRBC에 대한 항체생산능의 지표가 될 수 있는 plaque형성세포(PFC)를 관찰한 결과 대조군에 비해 카드뮴으로 처리한 실험군에서 그 수가 현저히 감소되어 있음을 보여주고 있다(Fig. 1). 1차 면역후 4일째와 5일째에 실시한 plaque형성세포수는 대조군에 비해 두 실험군, 즉 카드뮴 전처리군 및 비전처리군에서 적은 수로 관찰되었다($p < 0.05$). 그러나 카드뮴 전처리군과 비전처리군의 관찰결과간에는 유의한 차가 없었다($p > 0.05$). 2차 면역후에 형성된 IgG에 의한 plaque형성세포수는 IgM에 의한 것에 비해 50% 미만의 수준이었으며, 역시 대조군에 비해 실험군의 PFC수가 적었다($p < 0.05$).

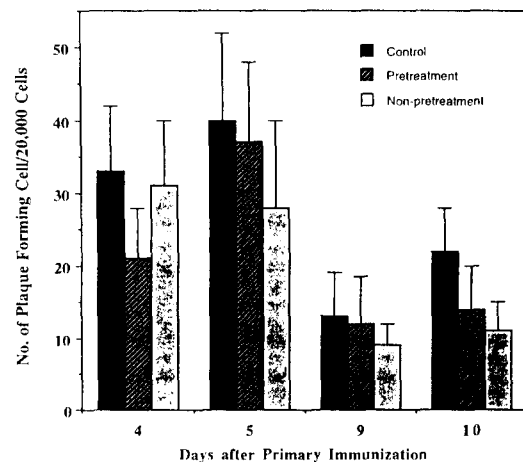


Fig. 1. Effect of cadmium chloride on PFC response to SRBC. Mice in each groups were primarily immunized with SRBC(10^6 cells) and secondary immunizations were done 7 days after primary immunization.

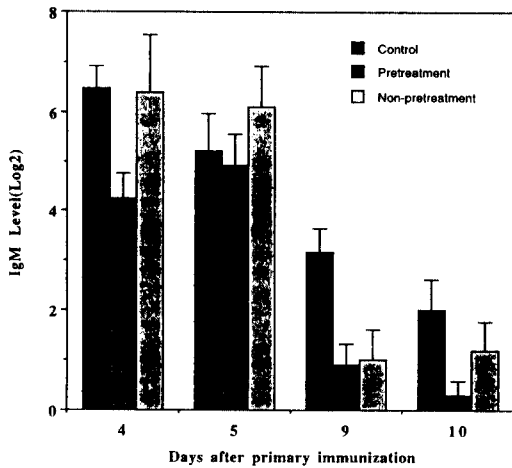


Fig. 2. Effect of cadmium chloride on the anti-SRBC antibody(IgM) titer by the days of primary immunization.

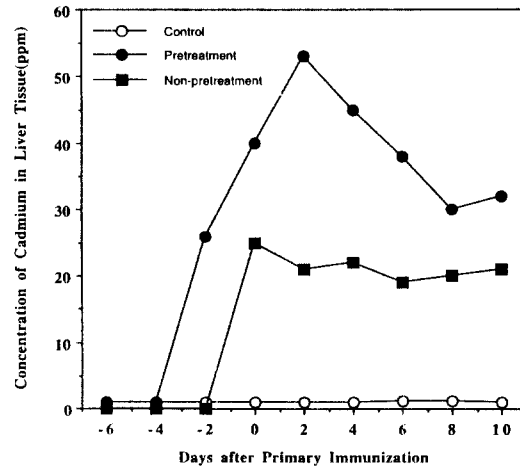


Fig. 4. Cadmium concentration in liver of mice in control and cadmium treatment groups by the days of immunization and cadmium injection.

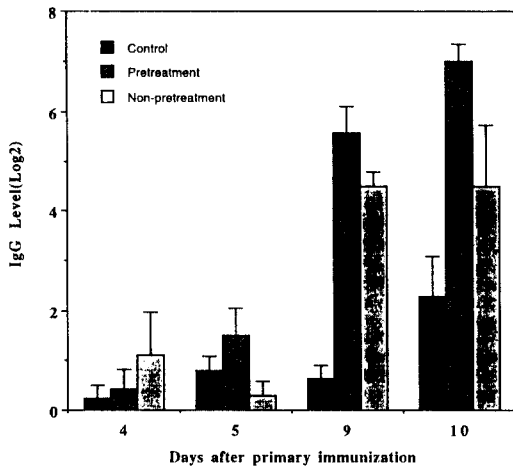


Fig. 3. Effect of cadmium chloride on the anti-SRBC antibody(IgG) titer by the days of primary immunization.

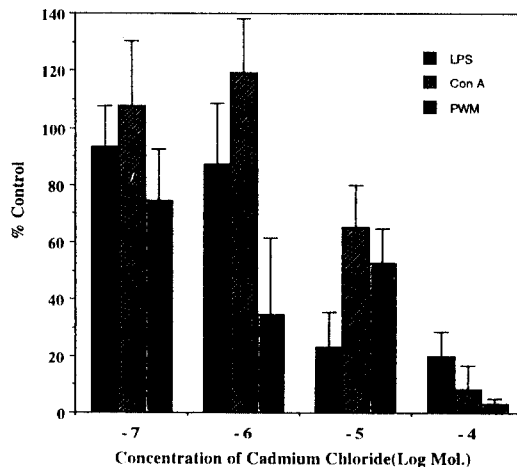


Fig. 5. Effect of cadmium chloride on $[3H]$ thymidine uptake in spleen cells stimulated with phytohemagglutinin(PHA), concanavalin A(Con A), pokeweed mitogen(PWM). Values are expressed as percentage of the control response.

2. 카드뮴이 면역적혈구에 대한 혈청내 항체생산능에 미치는 영향

면역 4일 및 5일째의 IgM의 생성량은 대조군과 카드뮴 비전처리군에서 차이가 없었으나($p > 0.05$), 카드뮴 처리군에서는 상기 두군에 비해 현저히 감소되어 있었다($p < 0.05$). 면역 9일 및 10일째에는 대조군에 비해 카드뮴처리군의 IgM의 생성량이 적었다($p < 0.05$, Fig. 2). 한편 IgG의 생성은 Fig. 3에서와 같이 면역 4, 5일째 보다 면역 9일 및 10일째에 현저히 증가하는 경향을 보였는데 전반적으로 카드

뮴처리군의 생성량이 대조군에 비해 현저히 증가되어 있었다($p < 0.05$).

3. 간장내 카드뮴의 농도

간장조직내 대조군 및 실험군간의 카드뮴 농도변화는 Fig. 4와 같다. 카드뮴 전처리군과 비전처리군 모두 시간이 경과함에 따라 대조군에 비해 현저히 높은 농도를 보였다($p < 0.05$). 1차 면역과 함께 고

농도(5 mg/kg)의 카드뮴을 투여한 후, 전처리군의 농도는 비전처리군의 것보다 2배이상의 높은 수준으로 상승하였는데($p < 0.05$), 이같은 조직농도는 시간이 경과함에 따라 점차 감소하여 면역 5일 이후에는 모두 일정한 수준을 유지하는 경향을 보였다.

4. 카드뮴이 비장세포 증식능에 미치는 영향

여러가지 마이토젠에 대한 비장세포 증식능을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. 세포배양의 전기간에 걸쳐 카드뮴을 비장세포에 노출시켰을 때, LPS와 PWM군에서는 카드뮴농도가 증가함에 따라 세포증식이 현저히 억제되었으나($p < 0.05$), Con-A군의 경우는 $10^{-5} \sim 10^{-7} M$ 범위에서 오히려 세포증식을 항진시키는 결과를 보였다.

IV. 고 찰

카드뮴을 비롯한 중금속들이 면역계에 미치는 영향에 대해서 많은 연구들이 시행되고 있으나 아직까지 많은 논란이 계속되고 있는 바, 이는 다양한 실험조건에 따라 그 결과가 서로 다르기 때문이다(Koller 등, 1976; Koller, 1979; Wesenberg와 Wesenberg, 1983).

본 연구에서 관찰한 세포성면역의 지표인 PFG반응은 실험군에서 대조군에 비해 다소 감소되었으나 유의한 차이는 아니었다. 이러한 결과는 10주동안 음용수를 통해 섭취시킨 카드뮴이 plaque형성세포수에 영향을 미치지 않았다는 보고(Müller 등, 1978)와 일치하고 있다. Koller 등(1976)에 의하면 카드뮴을 복강으로 주사한 경우 plaque형성 세포수가 증가되는 반면, 경구투여시에는 약간 감소한다고 하나 본 실험결과에서는 유의하게 감소하지는 않았으며, 2차 면역 후에는 IgG에 대한 plaque형성 세포수가 감소한다고 보고되어 있다. 그러나 시험관 내에서 SRBC로 면역하여 실시한 plaque형성 세포수는 납과 니켈에 의해서는 항진되고 아연에 의해서는 억제되는 등(Warner와 Lawrence, 1986), 투여방법이나 투여기간 및 금속의 종류에 따라서 면역반응이 달라진다.

또한 체액성 면역반응의 지표로서의 IgM치는 대조군과 실험군간에 유의한 차이가 없었고 IgG는 2차 면역후 48시간째 카드뮴 투여군에서 유의하게 높았다. 이러한 결과는 납과 카드뮴이 IgG생성을 크게 억제시키며, 특히 T-helper(Th)세포에 영향을 미치는데(Pelletier 등, 1988; Ochel 등, 1991), 수은 투여시 총항체에는 영향을 미치지 않으나 7s항체

가를 억제시켰다는 보고(Koller, 1973; Lawrence, 1981; 김 등, 1993)와는 상반된다. 그러나, Müller 등(1978)의 연구에서는 SRBC에 대한 IgM 및 IgG가에 영향을 미치지 않아 본 결과와 유사하였다. IgG가는 1차면역후 5일째에 증가되기 시작하여 2차면역후 48시간째 가장 큰 차이를 보였으며 72시간째에는 차이를 보이지 않았다. 이런 결과는 수은이 Th세포를 활성화시키고 IL-4를 생성케 하여 B세포의 항체형성(IgG₁, IgE)을 증가시킨다는 기전(Pelletier 등, 1988; Ochel, 1991)에서와 같이 카드뮴이 IgG생성을 증가시킨 것으로 사료되며, 그 이후에는 단 1회 투여 결과로 카드뮴에 대한 적응이나 일부 배설로 카드뮴의 효과가 지속되지 않은 것으로 사료된다. 이상의 결과에서 카드뮴에 의해서 비장세포의 plaque형성 세포수는 억제되나 혈청내 IgG가는 항진되어 나타나 랫트에 카드뮴을 경구투여시 말초혈액보다는 비장에 15배 높게 축적되었다(Wesenberg와 Wesenberg, 1983)는 결과와 비교할 때 조직내 농도와도 상관이 있을 것으로 사료된다.

한편, 마이토젠에 대한 림프구 증식반응은 림프구의 시험관내 반응성을 측정하기 위하여 광범위하게 이용되고 있다. 항원자극시 생체내의 면역세포의 증식 반응과 유사한 점에서 생체내 림프구 활성을 알아보기 위하여 이용되거나(Catalona 등, 1975), 독성물질의 폭로정도와 지속성을 평가하는 지표(Snyder와 Valle, 1991)로 사용 할 수 있다.

본 연구에서는 시험관 내에서 카드뮴에 의한 여러가지 마이토젠에 대한 비장세포 증식반응을 조사하였던 바, LPS, PWM에 의한 증식반응은 카드뮴농도 증가에 따라 억제되었으나 Con-A에 대한 증식반응은 대조군보다 전처리군 및 비전처리군에서 저농도에서 증가되거나 완만한 억제 경향을 보였다. Gaworski와 Sharma(1978)에 의하면 마우스의 생체내 투여시 납, 카드뮴 및 수은이 PWM 및 PHA에 대한 비장림프구 증식능을 현저히 억제시키고, 시험관 내에서는 카드뮴과 수은은 유의하게 억제시킨 반면 납과 아연은 오히려 증가시키는 것으로 보고하였다. 본 연구결과에서는 카드뮴 처리한 마우스의 비장림프구는 B세포 마이토젠(LPS) 보다는 T세포 마이토젠(con-A, PHA)에 더 큰 증식반응을 나타내 카드뮴이 저농도에서 T세포 활성화에 더 관여하는 것으로 사료된다(Wesenberg와 Wesenberg, 1983).

Warner와 Lawrence(1986)는 생체내투여시 납, 니켈 및 아연이 마이토젠 없이 림프구 증식을 증가시킨 반면, LPS와 Con-A유발 증식반응에는 영향을 미치지 않아 금속이온의 종류와 생체투여후 시

험관내 반응이나 시험관내에서의 반응이 서로 다를 것을 보고하고 있다.

또한 카드뮴 축적 정도와 면역반응과의 관계를 보면 카드뮴 전처리군이 카드뮴 비전처리군보다 2배정도 높은 카드뮴축적을 보이지만 plaque 형성세포수, SRBC에 대한 항체가는 유의하지는 않으나 높게 나타나 세레늄,카드뮴 및 아연 등으로 전처리한 후 카드뮴 투여시 전처리에 의한 metallothionein 생성이 카드뮴에 독성에 대하여 방어작용을 한 결과 (Goering과 Klaassen, 1983, 1984a, 1984b; 김 등, 1992)와 유사한 양상을 보였다.

이상의 실험 결과는 카드뮴이 면역반응 및 림프구 증식반응을 억제시키나 Th세포의 기능은 항진시키는 것으로 보여 추후 Th세포의 활성화 및 cytokine (특히 IL-4)의 역할에 대한 증거제시가 필요하며, 카드뮴 비전처리군보다는 전처리군에서 독성이 다소 감소되어 방어물질로 생각되는 metallothionein의 농도를 측정함으로써 카드뮴의 면역독성 억제가 metallothionein에 의한 영향인지 아닌지를 구명해야 할 것으로 사료된다.

V. 요 약

카드뮴이 면역반응에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 마우스를 3개군으로 나누어 plaque형성세포 분석, SRBC에 대한 응집소가 측정, 시험관내에서 PWM, LPS, Con-A에 대한 비장세포 증식반응, 간장내의 중금속 축적량을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 대조군의 plaque형성 세포수는 카드뮴 전처리군 및 비전처리군보다 높았으나 통계적 유의성은 없었다.

2. SRBC에 대한 총 항체가는 카드뮴 전처리군과 비전처리군이 대조군과 유사하였으나 IgG항체가는 대조군보다 증가되었다($p < 0.01$).

3. 여러가지 마이토젠에 대한 비장림프구 증식반응은 카드뮴 농도에 비례하여 억제되었으며($p < 0.05$), Con-A에 대한 증식반응은 저농도에서도 증가된 양상을 보였다.

이상과 같은 실험결과는 카드뮴투여가 마우스의 면역반응을 변화시킬 수 있다는 것을 시사해 주고 있으며, 특히 세포성면역은 감소시키나 체액성면역의 일부는 오히려 항진시킬 수 있다는 것을 보여주고 있다. 그러나 카드뮴의 전처리유무는 면역반응의 증감에 큰 영향을 주지는 않는다고 사료된다.

참고문헌

- 1) 김남송, 이재형, 고대하, 기노석, 황인담 : Cadmium에 의한 흰쥐의 간장 및 신장의 metallothionein 변화와 방어효과. 예방의학회지, **24**, 287-302, 1991.
- 2) 김정현, 이재형, 기노석, 고대하 : Selenium에 의한 흰쥐의 장기내 metallothionein 변화와 cadmium에 미치는 영향. 한국환경위생학회지, **18**, 95-104, 1992.
- 3) 김종서, 이정상, 이황호, 김남송, 고대하, 기노석 : 수은에 의한 마우스의 면역반응 조절 장애. 예방의학회지, **27**, 11-24, 1994.
- 4) 안령미, 김완태, 이희성 : 카드뮴 독성에 대한 부추 (*Allium odorum* L.)의 방어효과. 한국환경위생학회지, **17**, 102-113, 1991.
- 5) 일본약학회(편) : 위생시험법주해. 금원출판사. 149-157, 1983.
- 6) 환경청(편) : 환경오염공정시험법. 서울, 1983.
- 7) Axeleson, B., Darhlgren, S. E. and Piscator, M. : Renal lesions in the rabbit after long term exposure to cadmium. *Arch Environ Health*, **17**, 24-28, 1988.
- 8) Catalona, W. J., Tarpley, J. L., Potvin, C. and Chretien, P. B. : Correlations among cutaneous reactivity to DNCB, PHA-induced lymphocyte blastogenesis and peripheral blood E rosettes. *Clin Exp Immunol.*, **19**, 327-332, 1975.
- 9) Cherian, M. G. and Goyer, R. A. : Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Sci.*, **23**, 1-10, 1979.
- 10) Christensen, F. C. and Olson, E. C. : Cadmium poisoning. *Arch Ind Health*, **16**, 8-15, 1957.
- 11) Dudley, R. E., Svovoda, D. J. and Klaassen, C. D. : Acute exposure to cadmium causes severe liver injury in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **65**, 302-313, 1982.
- 12) Eidinger, D. and Pross, H. F. : The immune response to sheep erythrocytes in the mouse. I. A study to the immunological events utilizing the plaque technique. *Exp Med.*, **126**, 15, 1987.
- 13) Fleischer, M. and Sarofim, A. F. : Fasset, D. W. Environmental impact of cadmium. A review by the panel on hazardous trace substances. *Environ Health Perspect.*, **7**, 253-323, 1974.
- 14) Flick, D. F., Kraybill, H. F. and Dimitroff, J. M. : Toxic effects of cadmium. A review. *Environ Res.*, **4**, 71-85, 1971.

- 15) Gaworski, C. L. and Sharma, R. P. : The effects of heavy metals on [3H]thymidine uptake in lymphocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **46**, 305-313, 1978.
- 16) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Altered subcellular distribution of cadmium following cadmium pretreatment. Possible mechanism of tolerance to cadmium-induced lethality. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **70**, 195-203, 1983.
- 17) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Tolerance to cadmium-induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **74**, 308-313, 1984a.
- 18) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Zinc-induced tolerance to cadmium hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **74**, 299-307, 1984b.
- 19) Goyer, R. A. : Toxic effects of metals. In: Amdur, M. O., Klaassen, D. J.(eds). Casarett and Doull's Toxicology. 4th(ed). New York, Pergamon Press Inc., 634-638, 1991.
- 20) Gregory, S., William, F. B. and Tom, S. M. : Correlation of hepatic metallothionein with acute cadmium toxicity in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **39**, 61-69, 1979.
- 21) Hammond, P. B. and Foulkes, E. C. : Metal ion toxicity in man and animals. In Siegel H(ed.), *Metal Ions in Biological Systems*. Vol. 20, Marcel Dekker, New York, 177-182, 1986.
- 22) Jin, T., Nordberg, G. F. and Nordberg, M. : Resistance to acute nephrotoxicity induced by cadmium-metallothionein dependence on pretreatment with cadmium chloride. *Pharmacol Toxicol.*, **61**, 89-93, 1987.
- 23) Koller, L. D. : Immunosuppression produced by lead, cadmium, and mercury. *Am J Vet Res.*, **34**, 1457-1458, 1973.
- 24) Koller, L. D. : Some immunological effects of lead, cadmium and methyl mercury. *Drug Chem Toxicol.*, **2**, 99-110, 1979.
- 25) Koller, L. D., Exon, J. H. and Roan, J. G. : Antibody suppression by cadmium. *Arch Environ Health*, **30**, 598-601, 1975.
- 26) Koller, L. D., Exon, J. H. and Roan, J. G. : Humoral antibody response in mice after single dose exposure to lead or cadmium. *Proc Soc Exp Bio Med.*, **151**, 339-342, 1978.
- 27) Lawrence, D. A. : *In vivo* and *in vitro* effects of lead on humoral and cell-mediated immunity. *Infection and Immunity*, **31**, 136-143, 1981.
- 28) Mailman, R. B. : Heavy metal. In: Guthrie FE, Perry JJ (eds), Introduction to environmental toxicology. New York, Elsevier North Holland Inc, 34-43, 1980.
- 29) Metcalf, J. A., Gallin, J. I., Nan, Seef, W. M. and Root, R. K.(eds) : Neutrophil purification. In: Laboratory Manual of Neutrophil Function. New York, Raven Press, 2-3, 1986.
- 30) Müller, S., Gillert, K. E., Krause, C., Jautzke, G. and Gross, U. and Diamantstein, T. : Effects of cadmium on the immune system of mice. *Experientia*, **35**, 909-910, 1978.
- 31) Newman-Taylor, A. J. : Cadmium. In Rom WN (ed.), Environmental and Occupational Medicine. 2nd Ed., Little, Brown, and Company, Boston, 767-772, 1992.
- 32) Ochel, M., Vohr, H. W., Pfeiffer, C. and Gleichmann, E. : IL-4 is required for the IgE and IgG1 increase and IgG1 autoantibody formation in mice treated with mercuric chloride. *J. Immunol.*, **146**, 3006-3011, 1991.
- 33) Onosaka, S., Tanaka, K. and Cherian, M. G. : Effects of cadmium and zinc on tissue levels of metallothionein. *Environ Health Perspect*, **54**, 67-72, 1984.
- 34) Pelletier, L., Pasquier, R., Guettier, C. and Vial, M. C. *et al.* : HgCl₂ induces T and B cells to proliferate and differentiate in BN rats. *Clin Exp Immunol.*, **71**, 336-342, 1988.
- 35) Sendelbach, L. E., Bracken, W. M. and Klaassen, C. D. : Comparisons of the toxicity of CdCl₂ and Cd-metallothionein in isolated rat hepatocytes. *Toxicol.*, **55**, 83-91, 1989.
- 36) Snyder, C. A. and Valle, C. D. : Lymphocyte proliferation assays as potential biomarkers for toxicant exposures. *J Toxicol & Environ Health*, **34**, 127-139, 1991.
- 37) Stacey, N. H. and Klaassen, C. D. : Comparison of the effects of metals on cellular injury and lipid peroxidation in isolated rat hepatocyte. *J Toxicol Environ Health*, **7**, 139-147, 1981.
- 38) Warner, G. L. and Lawrence, D. A. : Stimulation of murine lymphocyte response by cations. *Cellular Immunol.*, **101**, 425-439, 1988.
- 39) Wesenberg, G. B. R. and Wesenberg, F. : Effect of cadmium on the immune response in rats. *Environ Res.*, **31**, 413-419, 1983.