

## 덱스트로메트르판이 마우스의 일차 체액성 면역반응에 미치는 영향

표 명 윤\*

숙명여자대학교 약학대학

## Effects of Dextromethorphan on the Primary Humoral Immune Response in Mice

Myoung-Yun Pyo\*

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

### ABSTRACT

Dextromethorphan hydrobromide (DXM) has been widely used as a nonopioid antitussive drug with low toxicity and low potential for drug dependency. DXM is a psychotropic drug since 2003 in our country. This study was performed to investigate the immunotoxicity induced by abuse of DXM. Mice were orally exposed to DXM dissolved in saline as concentration of 30, 60, and 120 mg/kg b.w. before (day-2) or after (day+2) immunization (OVA-antigen, day 0). Thereafter, we measured the increased rate of body weight, relative weight of organ (thymus, spleen, liver, kidney) and OVA-specific IgM level in sera. In addition, mouse splenocytes were exposed to various concentration of DXM (0.001 ~ 100  $\mu$ M) and cultured with B cell mitogen (LPS) and splenocytes proliferations (SP) were measured by MTT-assay. Thymus-weight were slightly changed on day 9 after administration of DXM, but body-, spleen-, liver-, and kidney-weight were not different between control group and DXM-treated group. SP to LPS were significantly decreased at high concentration (100  $\mu$ M) when compared with controls. When DXM was administered before or after immunization with OVA-antigen, OVA-specific IgM levels were significantly lowered in a dose-dependent manner. These results indicate that DXM may depress the primary humoral immune response to the initial antigenic challenge.

**Key words** : dextromethorphan, OVA-specific IgM, splenocytes proliferation

### 서 론

덱스트로메트르판(dextromethorphan hydrobromide, DXM)은 약한 진통작용을 갖고 있는 morphinan의 유도체로서 호흡기 억제작용이나 중독증상이 거의 없는 비마약성 진해제로 알려져 codein

의 대체약물로 널리 쓰이고 있다(Bem and Peck, 1992).

DXM은 위·장관계를 통하여 매우 잘 흡수되고, 빨리 대사되기 때문에 체순환에 도달하는 미변화체의 활성물질은 거의 없을 뿐 아니라 대사물의 혈중농도는 경구투여 후 2시간에 최대를 나타내며 60분 후에 최고 혈중농도의 96.6%에 도달하고 있다(Wu *et al.*, 1995). 또한 이 약물은 간 microsome 효소에 의해 주로 O-demethylation되어 dextror-

\* To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-2-710-9573, E-mail: mypyo@sookmyung.ac.kr

phan으로 대사되고 신장으로 배설되는데, 이 대사를 또한 진해작용을 나타내고 있다(Constanzer *et al.*, 2005).

DXM이 치료용량(60~120 mg/일)에서는 부작용이 적고 비교적 안전한 비마약성 진해제라고는 하지만 졸음, 피로감, 근긴장이상, 안구진탕증, 흥분감, 착란, 고체온증, 위장장애, 구역, 두통, 식욕부진, 불면, 구갈, 권태감 등이 나타나기도 하고, 과량 투여 시에는 현기증, 혼수, 호흡억제, 중추신경계 억제, LSD와 유사한 환각작용을 유발하고, 남용하게 될 경우 산동, 안면홍조, 갈증, 구취, 위장기능 감소, 빈맥, 고혈압, 발열 등의 신체 증상과 환각, 망상, 의식 변화, 섬망 등의 신경증상을 나타낸다(Ziaee *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006).

또한, 최근에는 청소년들이 구하기 쉽고 가격이 저렴하여 마약효과를 목적으로 DXM 제제를 소량씩 구입하여 남용하는 행태가 확산되고 있고, 미국, 태국 등(Manaboribon and Chomchai, 2005; Schwartz *et al.*, 2005; Bryner *et al.*, 2006) 외국에서 뿐만 아니라 국내에서도 환각을 얻기 위해 DXM을 상습·남용하는 자들의 중독사가 빈번히 일어나고 있는 등 사회적 문제가 야기되고 있다(Yoo *et al.*, 1996; Chung *et al.*, 2004). 보건복지부는 DXM을 항정신성 의약품으로 지정하고 2003년 10월부터 마약과 같은 수준의 강력한 제제를 취하고 있다.

면역계는 생체의 기관 중 가장 예민하게 반응할 수 있는 표적기관의 하나이며, 생체 내 면역반응은 면역계 뿐만 아니라 내분비계 및 신경계 등 여러 인자가 밀접한 연관을 가지고 복잡한 기전에 의해 일어나고 있다(Descotes, 2004). 최근에는 약물 및 환경독성물질의 일반작용 및 독성작용 뿐만 아니라 면역독성학적인 평가의 필요성이 강조되고 있다(Smialowicz and Holsapple, 1996). 남용되고 있는 약물, 특히 신경계에 작용하는 약물들이 면역기능을 변화시키고(Di Francesco *et al.*, 1993), 이러한 약물을 남용하는 집단에서 HIV를 비롯한 각종 감염성 질환발생 및 암발생이 높다고 보고 되고 있다. 대마초의 주성분인 delta 9-tetrahydrocannabinol(Kaminski, 1994; Matveyeva *et al.*, 2000), morphine(LeVier *et al.*, 1994), nalbuphine(Yun and Pyo, 2005) 등이 면역억제를 유발한다고 보고되었다.

지금까지 DXM에 대한 약동학적(Wu *et al.*, 1995), 분석학적(Constanzer *et al.*, 2005; Kim *et al.*,

2006), 신경독성학적인 연구(Pehnick and Poland, 2004; Shin *et al.*, 2004)는 많이 이루어지고 있으나 면역학적인 연구는 미비한 실정이다.

그러므로, 본 연구에서는 우리나라에서 남용되고 있는 DXM이 생체의 면역반응에 미치는 영향을 연구하고자, 마우스에 DXM을 투여하여 체중 및 장기무게 변화, 혈 중의 OVA-특이적인 IgM 항체 생성 정도와 B 세포 mitogen에 대한 비장세포 증식정도를 측정하여 일차 체액성 면역반응에 미치는 영향을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시약 및 기기

본 실험에서는 RPMI medium 1640 powder, fetal bovine serum (FBS)은 Gibco Co. (N.Y, U.S.A)에서, chicken egg ovalbumin (OVA), Complete Freund's Adjuvant (CFA), disodium p-nitrophenyl phosphate (NPP), anti-mouse IgM alkaline phosphatase conjugate, lipopolysaccharide (LPS)는 Sigma Co. (Louis, U.S.A)에서, 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-5-diphenyltetrazolium (MTT)는 Amresco (Ohio, U.S.A)에서 구입하였으며, 기타 시약은 세포 배양용 및 특급으로 구입하여 사용하였다. 실험기기로는 CO<sub>2</sub> incubator (New Brunswick Scientific Inc.), ELISA microplate reader (ELX800, BIO-TEK instruments) 등을 이용하였다.

### 2. 실험동물

3~4주령인 ICR계 암컷 마우스를 (주)오리엔트로부터 구입하여 고휘사료(삼양사)와 수돗물을 자유롭게 공급하면서 실험동물실에서 2~3주간 적응시킨 후, 건강상태가 양호한 7주령(23±1g)의 마우스를 선택하여 실험에 사용하였다. 실험동물실의 온도는 21~24°C, 습도는 40~60%로 유지하였고 조명은 12시간 간격으로 조정하였다.

### 3. 실험물질 조제 및 투여

Dextromethorphan HBr (DXM, Sigma-Aldrich, USA)을 구입하여 실험물질로 사용하였으며, 마우스 체중 10g당 0.1 mL 투여할 수 있는 농도로 생

리식염수에 용시 조제하여 사용하였다. ICR 암컷 마우스에 OVA 항원주사 2일전(day-2) 또는 항원 주사 2일 후(day+2)에 DXM를 용량별로(30, 60, 120 mg/kg) 1회 경구투여하였다. 모든 실험에서 실험군당 마우스를 5마리로 하고, 대조군에는 생리식 염수를 같은 방법으로 투여하였다. 비장세포증식능 실험을 하기 위해서는 실험직전에 dimethyl sulphoxide (DMSO) 1% 함유 배지에 DXM을 용해하여 농도별(0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu$ M)로 만들었다.

#### 4. 체중 및 장기무게 변화 측정

실험시작하기 전 약 16시간동안 절식하여 실험 동물의 체중을 측정하였으며, 체중변화는 DXM 투여일(day 0)의 체중을 기준으로 하여 9일째에 증가된 체중으로 나타내었다. 또한, 각 장기무게 변화는 실험일에 실험동물의 비장, 흉선, 간장, 신장을 적출하여 각각의 무게와 실험일의 체중에 대한 백분율(%)로 장기 중량비를 나타내었다.

#### 5. B cell mitogen에 대한 비장세포 증식능 측정

##### 1) 비장세포액 조제

마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 빙냉의 RPMI-1640 배지액에 넣고 teflon pestle을 이용하여 200 mesh stainless sieve를 통과시키고 이 세포액에 RBC lysis buffer를 가하여 원심분리(1,000 rpm, 10 min, 4°C)하여 적혈구를 용혈시킨 후 상등액을 제거하였다. 침전된 비장세포에 10% FBS가 첨가된 RPMI-1640 배지액을 가하여 trypan blue exclusion method (Mischell and Shiigi, 1980)로  $4 \times 10^6$  cells/mL의 비장세포액이 되도록 조정하였다.

##### 2) 비장세포 증식능 측정

비장세포액 ( $4 \times 10^6$  cells/mL)을 96 well plate에 well 당 100  $\mu$ L씩 가하고 30분간 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 안정시킨 후, DXM을 농도별(0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100  $\mu$ M)로 가한 각 well에 B cell mitogen인 LPS (50  $\mu$ g/mL)를 20  $\mu$ L 가하고 10% FBS-RPMI 배지액으로 well의 전체용량이 200  $\mu$ L가 되도록 하여 72시간동안 배양(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)하였다. 비장세포의 증식정도는 생선세포의 효소작용에 의해 MTT 시약이 환원되어 생성되는 formazan의 양

을 측정함으로써 세포독성 연구에 자주 사용되며 <sup>3</sup>H-thymidine uptake assay의 결과와 유사한 것으로 보고된(Ciapetti *et al.*, 1993) MTT assay (Mosmann, 1983)를 이용하여 측정하였다. 즉, 배양 후 각 well에 MTT용액(3 mg/mL)을 50  $\mu$ L씩 가하고 4시간 동안 배양한 후에 원심분리(1,000 rpm, 10 min, 4°C)하여 상등액을 제거하였다. DMSO원액을 well당 50  $\mu$ L씩 가하고 10분 이내에 ELISA reader로 흡광도(570 nm)를 측정하여 비장세포 증식정도를 대조군과 비교하였다.

#### 6. 혈중 IgM 항체 측정

##### 1) 항혈청 분리

PBS용액에 용해시킨 ovalbumin (OVA) 용액(20  $\mu$ g/100  $\mu$ L)과 Complete Freund's Adjuvant (CFA)를 동량 혼합하여 마우스의 복강 내에 100  $\mu$ L씩 1회 주사하여 면역하였다. 면역한 후 7일째 실험동물의 안정맥총에서 heparin 처리되지 않은 모세관으로 채혈하여 37°C에서 2시간 방치한 후 원심분리(3,200 rpm, 15 min, 4°C)하여 혈청을 얻었고 실험하기 전까지 -70°C에서 보관하였다.

##### 2) OVA-specific IgM 항체 측정

실험직전에 보관된 혈청을 56°C에서 30분간 방치하여 불활성화 시켜 사용하였으며, 혈청중의 OVA-specific IgM를 측정하기 위해서 Engvall E. 등(1972)의 방법을 변형하여 사용하였다. PBS용액에 용해시킨 OVA액 100  $\mu$ L (100  $\mu$ g/well)를 96 well flat bottomed plate 각 well에 가하여 acetate plate sealer로 봉한 후 4°C에서 하룻밤 방치하였다. OVA액을 제거하고 auto strip washer를 이용하여 washing buffer로 3회 세척한 후 dilution buffer I (1% BSA가 함유된 PBS)을 각 well에 200  $\mu$ L씩 가하여 37°C에서 30분간 방치한 후 3회 세척하였다. 실험동물의 혈청을 dilution buffer II (0.1% BSA와 0.05% Tween 20이 함유된 PBS)로 각각 40배 희석하여 100  $\mu$ L/well씩 가한 다음 37°C에서 2시간동안 방치한 후, 혈청을 제거하고 3회 세척하였다. Dilution buffer II로 500배 희석한 anti-mouse IgM alkaline phosphatase conjugate를 각 well에 100  $\mu$ L씩 가하여 37°C에서 1시간 방치한 후 기질인 NPP 용액을 100  $\mu$ L/well씩 가하여 37°C에서 30분 내에 ELISA microplate reader로 각 well의 흡광도를

405 nm에서 측정하여 대조군의 흡광도와 비교하였다.

## 7. 통계학적 처리

각 실험군의 측정값의 평균과 표준편차를 구하고, 대조군과의 차이를 student's t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 체중 및 장기무게에 미치는 영향

마우스에 DXM을 30, 60, 120 mg/kg 용량으로 1회 경구투여하여 급성노출시킨 후, 9일째에 체중과 장기무게 변화를 대조군과 비교하여 그 결과를

**Table 1.** The change of body weight in mice orally administered DXM.

Exp. group (mg/kg)	Initial b.w. (day 0)	Final b.w. (day 9)	B.W. gain (g)	Increase rate (%)
Control	25.28±0.54	26.50±0.10	1.21±0.57	4.84±2.39
DXM 30	25.05±0.64	26.73±0.12	1.67±0.63	6.73±2.69
DXM 60	24.62±0.07	26.43±0.43	1.81±0.49	7.37±1.99
DXM 120	24.39±0.18	25.91±0.87	1.52±0.83	6.24±3.41

Mice were orally administered with single dose of 30, 60, 120 mg/kg DXM and sacrificed on day 9 following administration of DXM. Increase rate of body weight (%)=(final weight/ initial weight)×100. The results are expressed as the mean±S.D. of 3 separate experiments (5 mice/ group/experiment).

**Table 2.** The change of organ weight in mice orally administered DXM.

Exp. group (mg/kg)	Body weight (g)	Spleen		Thymus		Liver		Kidney	
		Absolute weight (g)	Relative weight (%)	Absolute weight (g)	Relative weight (%)	Absolute weight (g)	Relative weight (%)	Absolute weight (g)	Relative weight (%)
Control	26.79±0.53	0.15±0.02	0.06±0.01	1.45±0.08	0.35±0.03	0.56±0.06	0.19±0.02	5.46±0.09	1.30±0.09
		0.13±0.02	0.06±0.01	1.49±0.05	0.35±0.02	0.49±0.07	0.23±0.02	5.63±0.10	1.18±0.26
DXM 30	26.72±0.11	0.15±0.01	0.06±0.01	1.52±0.17	0.37±0.03	0.57±0.03	0.22±0.04	5.69±0.49	1.39±0.08
		0.15±0.02	0.07±0.01	1.54±0.15	0.36±0.02	0.15±0.02	0.07±0.01	1.54±0.15	0.36±0.02
DXM 60	26.69±0.75	0.59±0.06	0.26±0.03*	5.87±0.26	1.38±0.02				
DXM 120	26.27±1.33								

Change of organ weight (%)=(organ weight/final b.w.)×100. Significant difference from control group (\*p<0.05). Other legends are the same as those described in Table 1.

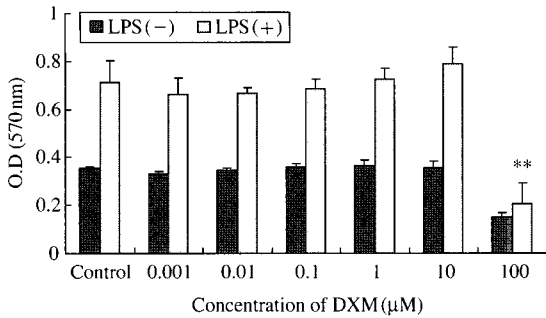
Table 1과 2에 나타내었다.

실험물질 투여일의 체중을 기준으로 하여 9일째의 체중 증가(g)와 체중 증가율(%)을 Table 1에서 보면, DXM 투여군은 투여용량에 따라 다소 차이는 있으나 대조군에 비해 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.

또한, 실험일에 DXM 투여군의 장기무게(비장, 흉선, 간장, 신장) 및 체중에 대한 장기무게의 중량비를 약물을 투여하지 않은 대조군에 비교해 보면, Table 2에서 보는 바와 같이, 비장, 간장 및 신장무게는 대조군과 유사하였다. 그러나, 모든 투여용량에서 흉선의 무게는 약 0.06 또는 0.07 g으로 대조군(0.06 g)과 거의 같았으나, 체중에 대한 흉선무게의 중량비(0.22~0.26%)는 대조군(0.19%)에 비해 증가하는 경향을 보이고, 특히 고용량인 120 mg/kg 투여군에서는 유의성 있게(p<0.05) 증가하는 변화를 나타내었다.

### 2. B cell mitogen에 대한 비장세포 증식능에 미치는 영향

Fig. 1에서 보는 바와 같이 비장세포에 LPS만을 첨가하여 배양한 대조군의 O.D.값(0.71)이 LPS를 첨가하지 않고 비장세포만을 배양한 대조군(0.36)보다 높아 mitogen인 LPS에 의해 비장세포 증식이 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 비장세포에 DXM을 농도별로 LPS와 동시에 첨가하여 배양한 실험군의 O.D.값은 LPS만을 첨가하여 배양한 대조군의 O.D.값과 비교해 보면, 0.001~10 μM 농도까지



**Fig. 1.** Effects of DXM on LPS-induced splenocytes proliferation in vitro. Mouse splenocytes were stimulated without (media) or B cell mitogen (LPS 50 μg/mL) in the presence of various concentration of dexamethorphan HBr (DXM) for 72 hrs. Splenocytes proliferation was assessed by MTT assay. Results are the means ± S.D. of 3 different experiments and all experiments were done in triplicate. Significant difference from controls (\*\*p < 0.01).

는 거의 유사하거나 약간 감소되어 큰 변화가 보이지 않았고, 고농도인 100 μM 농도에서의 O.D. 값(0.21)은 대조군에 비해 약 70.8% 정도 유의성 있게 (p < 0.01) 감소되었다. 그러나, LPS를 첨가하지 않고 비장세포에 DXM을 농도별로 가하고 배양한 흡광도는 0.001 ~ 10 μM 농도까지는 DXM을 첨가하지 않은 대조군의 흡광도(0.36)와 비슷하나 100 μM 농도에서의 흡광도(0.15)가 대조군보다 낮아 세포독성을 나타내었다. 또한, Kim 등 (1995)은 DXM을 만성적으로 투여한 결과 pokeweed mitogen에 의한 마우스의 비장세포 증식능은 변화가 없었으나 LPS mitogen에 의한 비장세포 증식능이 유의성 있게 억제되었다고 보고하였다. 본 연구의 실험결과에서도 DXM이 B 세포를 자극하는 LPS mitogen으로 유도되는 비장세포 증식을 감소시켜 체액성 면역기능을 억제 시킬 수 있음을 시사해 주고 있다. 그러나, 고농도인 100 μM 농도에서 보여준 LPS로 유도되는 비장세포 증식능 억제의 일부는 DXM의 세포독성의 결과로도 생각할 수 있어 이에 대한 연구가 보완되어야 한다.

**3. 혈 중 IgM 항체 생성에 미치는 영향**

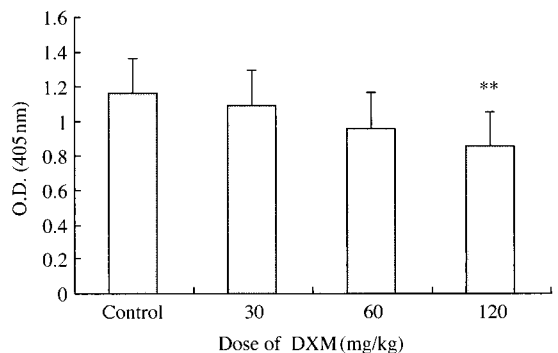
OVA 항원주사 2일 전(day-2) 또는 항원주사 2일 후(day+2)에 DXM을 마우스에 30, 60, 120 mg/

kg 경구투여하고, 일차 면역후 혈청 IgM 항체가 가장 많이 생성되는 항원주사 후 7일째에 혈액을 채취하여 혈청 중 IgM 항체량을 ELISA 법으로 흡광도를 측정 한 결과는 Fig. 2 및 3과 같다.

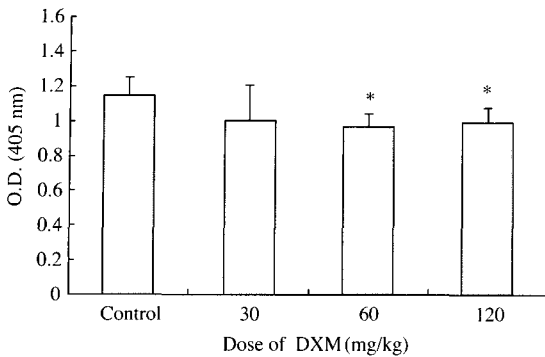
OVA 항원접촉 전에 DXM이 투여되었을 경우에는 (Fig. 2) 실험동물의 혈청 중 OVA specific IgM 항체량은 대조군에 비해 DXM 30 mg/kg 투여군은 대조군과 비슷하였고, 60 mg/kg 투여군에서는 약간 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. 그러나 고농도인 120 mg/kg 투여군에서는 유의성 있게 (p < 0.01) 감소하였다.

OVA 항원접촉 후에 DXM이 투여되었을 경우에는 (Fig. 3) DXM 투여군의 IgM 항체량은 대조군에 비해 유의성 없이 약간 감소되었으며, 특히 60 mg/kg 투여군과 120 mg/kg 투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 (p < 0.01) 감소하였다.

진통목적으로 임상에서 사용되고 있으나 약물남용이 심각해짐에 따라 2001년도에 항정신성 의약품으로 지정된 nalbuphine은 항원접촉 전보다 후에 투여되게 되면 일차 체액성 면역반응이 현저히 억제되었다고 보고되었는데 (Yun and PYO, 2005), DXM은 항원접촉시기와 무관하게 일차 체액성 면역반응을 억제하는 것으로 보인다.



**Fig. 2.** Level of OVA-specific IgM in mice sera administered DXM before immunization. Mice were orally administered single dose of DXM (30, 60, 120 mg/kg) on the 2nd day (day-2) before immunization with OVA-antigen (i.p. day 0). Sera were collected on day 7 following immunization. The results are expressed as the mean ± S.D. of 3 separate experiments (5 mice/group/experiment). Significant difference from control group (\*\*p < 0.01).



**Fig. 3.** Level of OVA-specific IgM in mice sera administered DXM after immunization. Mice were orally administered single dose of DXM (30, 60, 120 mg/kg) on the 2nd day (day+2) after immunization. Other legends are the same as those described in Fig. 2. Significant difference from control group (\* $p < 0.05$ ).

## 결론

Dextromethorphan · HBr (DXM)을 투여용량별로 (30, 60, 120 mg/kg) 마우스에 경구투여하고 9일째에 체중 및 장기무게를 측정한 결과, 흉선의 중량비는 대조군에 비해 약간 증가하는 경향을 보였으나 체중 및 그 밖의 장기무게는 대조군에 비해 큰 변화를 나타내지 않았다. 마우스 비장세포에 DXM을 농도별로 가하고 B cell mitogen인 LPS로 유도되는 비장세포 증식능을 측정한 결과, 대조군에 비해 0.001~10  $\mu$ M 농도까지는 거의 유사하거나 약간 감소되어 큰 변화가 보이지 않았으나, 고농도인 100  $\mu$ M 농도에서는 유의성 있게 ( $p < 0.01$ ) 감소되어 체액성 면역기능을 억제시킬 수 있음을 시사해 주었다. 또한, OVA 항원주사 전 또는 후에 DXM을 마우스에 용량별로 경구투여하고, 혈청 중 OVA-specific IgM 항체량을 측정한 결과, OVA-specific IgM 항체 생성이 용량의존적으로 유의성 있게 감소되어 DXM의 남용은 생체의 일차 체액성 면역반응을 억제시키는 것으로 보인다.

## 참고 문헌

safty issues, *Drug Saf.* 1992; 7(3): 190-199.

Bryner JK, Wang UK, Hui JW, Bedodo M and Macdougall C, Anderson IB. Dextromethorphan abuse in adolescence: an increasing trend: 1999-2004, *Arch Pediatr Adolesc Med* 2006; 160(12): 1217-1222.

Chung H, Park M, Hahn E, Choi H, Choi H and Lim M. Recent trends of drug abuse and drug-associated deaths in Korea, *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1025: 458-464.

Ciapetti G, Cenni E, Pratelli L and Pizzoferrato A. *In vitro* evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay, *Biomaterial* 1993; 14(5): 359-364.

Constanzer ML, Chavez-Eng CM, Fu I, Woolf EJ and Matuszewsk BK. Determination of dextromethorphan and its metabolite dextrophan in human urine using high performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry: a study of selectivity of a tandem mass spectrometric assay, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005; 816(1-2): 297-308.

Descotes J. Immunotoxicology of drugs and chemicals: An experimental and clinical approach, Volume I. Principles and methods of immunotoxicology, 3rd ed. 2004; 46-48.

Di Francesco P, Gaziano R, Pica F, Palamara AT, Innocenti F and Favalli C. *In vitro* phencyclidine-induced inhibition of lymphocyte proliferation: prevention by cell activation, *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1993; 15(1): 69-78.

Engvall E and Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA. *J Immunol* 1972; 109(1): 129-135.

Kaminski NE. Mechanism of immune modulation by cannabinoids, in Dean JH, Luster MI, Munson AE, Kimber I (eds): *Immunotoxicology and Immunopharmacology*, 2nd ed. New York: Raven Press, 1994; 349-362.

Kim EM, Lee JS, Park MJ, Choi SK, Lim MA and Chung HS. Standardization of method for the analysis of dextromethorphan in urine, *Forensic Sci Int* 2006; 161(2-3): 198-201.

Kim HC, Jhoo WK, Kwan MS and Hong JS. Effects of Chronic Dextromethorphan Administration on the Cellular Immune Responses in Mice, *Archives of Pharmacal Research* 1995; 18(4): 267-270.

LeVier DG, McCay JA and Stern ML. Immunotoxicological profile of morphine sulfate in B6C3F1 mice, *Fundam Appl Toxicol* 1994; 22: 525-542.

Manaboriboon B and Chomchai C. Dextromethorphan abuse in Thai adolescents: A report of two cases and review of literature, *Med Assoc Thai* 2005; 88 Suppl 8: S242-245.

Matveyeva M, Hartman CB and Harrison MT. *Delta* (9)-

- tetrahydrocannabinol selectively increases aspartyl cathepsin D proteolytic activity and impairs lysosomal processing in macrophages, *Int J Immunopharmacol* 2000; 22(5): 373-381.
- Mischell B and Shiigi S. Selected methods in cellular immunology, WH Freeman and company 1980; 16: 14-17.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, *J Immunol Methods* 1983; 65: 55-63.
- Pecknick RN and Poland RE: Comparison of the effects of dextromethorphan, dextrophan, and levorphanol on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis, *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309(2): 515-522.
- Schwartz RH. Adolescent abuse of dextromethorphan, *Clin Pediatr (Phila)* 2005; 44(7): 565-568.
- Shin EJ, Nabeshima T, Lee PH, Kim WI, Ko KH, Jhoo JH, Jhoo WK, Cha JY and Kim HC. Dimermorfan prevents seizures induced by the L-type calcium channel activator BAY k-8644 in mice, *Behv Brain Res* 2004; 151: 267-276.
- Smialowicz RJ and Holsapple MP. *Experimental Immunotoxicology*, Boca Raton, FL : CRC Press, 1996; 13-15.
- Wu D, Chon V, Kalow W and Sellers EM. Effects of route of administration on dextromethorphan pharmacokinetics and behavioral response in the rat, *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274: 1431-1437.
- Yoo Y, Chung H, Kim E and Kim M. Fetal zipeprol and dextromethorphan poisonings in Korea, *J Anal Toxicol* 1996; 20(3): 155-158.
- Yun HE and Pyo MY. Effects of nalbuphine on the primary humoral immune, *J Environ Toxicol* 2005; 20(4): 343-350.
- Ziaee V, Akbari Hamed E, Hoshmand A, Amini H, Kebriaeizadeh A and Saman K. Side effects of dextromethorphan abuse, a case series, *Addict Behav* 2005; 30(8): 1607-1613.