대한산업의학회지 제 11 권 제 3 호 (1999년 9월)
Korean J Occup Environ Med, 1999;11(3):332-339

카드뮴과 아연이 사람 단핵구성 세포주(THP-1)에서 IL-6의 분비에 미치는 영향

계명대학교 의과대학 예방의학교실 · 미생물학교실*

신동훈 · 서성일* · 서석권

— Abstract —

Effect of Cadmium and Zinc on IL-6 Secretion in a Human Monocytic Cell Line, THP-1

Dong-Hoon Shin, Seong-IL Suh*, Suk-Kwon Suh

Department of Preventive Medicine and Public Health, Microbiology
School of Medicine, Keimyung University*

Objectives : This study was performed to investigate effects of cadmium and zinc on IL-6 secretion using human monocyte in a culture system.

Mehtods : We have used trypan blue dye exclusion methods to examine the effect of cytotoxicity of $CdCl_2$, $ZnCl_2$ in THP-1 cells. IL-6 was measured by the ELISA method in the cell culture supernatants and the expression of IL-6 mRNA was examined by reverse transcription-polymerase chain reaction.

Results : IL-6 production by THP-1 cells were decreased at 0.1 mM cadmium concentration($p<0.05$) and increased as zinc concentration increased. Zinc prevented cadmium-induced suppression of IL-6, and the addition of a chelating agent, EDTA, restores IL-6 secretion. The expression of IL-6 mRNA decreased at 0.08 mM and 0.1 mM cadmium concentrations.

Conclusion : This results suggest that cadmium depressed production and gene expression of IL-6 in stimulated human monocytes, and zinc prevented cadmium-induced suppression of IL-6.

Key Words : Cadmium, Zinc, IL-6, Monocyte

접 수 : 1999년 3월 26일, 채 택 : 1999년 7월 21일

교신저자 : 신 동 훈(Tel : 053-250-7495~9, E-mail : dhshin@dsmc.or.kr)

본 연구는 1996년도 계명대학교 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어졌음.

서 론

카드뮴은 인체에 급, 만성독성을 일으키는 중금속으로 면역계의 조절요소 또는 면역세포에 직, 간접적으로 영향을 미쳐 병태생리적인 효과를 나타낸다. 인체면역계에서의 카드뮴의 영향은 항체형성의 감소, 임파구의 기능감소 및 증식억제, 임파구의 세포주기 변화와 interleukin-2 수용체의 변화(Stacey, 1986; Otsuka와 Ohsawa, 1991; Steffensen 등, 1994; Payette 등, 1995), 말초혈액 단핵세포에서 interleukin-1 beta(IL-1β)와 tumor necrosis factor-alpha(TNF-α)의 분비를 전사단계에서 억제(Theocharis 등, 1994)하는 등의 면역반응을 매개하는 것으로 알려진 cytokine에 대한 연구 보고가 있으나, 카드뮴의 농도와 노출상태 등에 따라 면역반응이 다르게 나타나므로(Koller, 1980; Descotes, 1992) 카드뮴의 면역 독작용이 단핵구 탐식체계에 미치는 영향에 대해서는 명확하게 밝혀진 것이 없다.

아연(zinc)은 세포의 증식과 정상 대사활동에 필요한 필수 미량원소중의 하나로서 각종 촉매작용에 관여하는 metalloenzyme과 밀접한 관계가 있으며 이들 효소의 구조를 유지하고 안정화 시키는데 중요한 역할을 한다. 아연은 세포복제에 필수적이며 DNA dependent RNA polimerase의 활성화에 필요하다. 또한 면역기능을 유지하는데 중요한 미량원소로서의 역할을 담당하고 있다. 식이성 아연의 섭취부족은 면역반응의 변화를 초래한다고 알려져 있다(Scuderi, 1990).

지금까지의 연구는, 저농도의 아연을 실험 동물에 전처치 후 고농도의 카드뮴을 투여한 결과 독성과 관련한 여러효소들의 활성을 변화시키거나(Eaton 등, 1980; Georing과 Klaassen, 1984a,b; Agarwal, 1988), 조직학적 손상없이 중금속을 축적하고 metallothionein의 농도를 증가시켜 카드뮴의 독성을 방어하며, 카드뮴의 암화과정을 방해하는 것으로 알려져 있다(Faeder 등, 1977; Dudley 등, 1985; Lehman 등, 1988; Sendelbach와 Klaassen, 1988; Coogan 등, 1992). 또한 in vitro에서 배양한 세포에 아연을 전처치 후 중금속을 여러농도로 첨가한 경우에 방어효과를 보고하고 있다(Bracken과 Klaassen, 1987; Sendelbach 등, 1989).

단핵구는 면역반응매개 물질인 cytokine IL-6을 분비하는 주요 세포의 하나이다(Navarro등, 1989). IL-6는 다형성의 기능을 가진 물질로서 주요 표적세포가 B, T세포 그리고 간세포이며 급성기 반응의 일차적 조절작용을 하여 면역반응의 중심 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Castell등, 1989). IL-6는 표적세포에 따라 세포증식을 촉진 또는 억제, 분화유도작용 등 여러가지 기능을 가지고 있으므로 IL-6의 조절은 정상적인 상태의 생물학적 항상성 유지에 중요한 한 부분이 될 수 있다.

본 실험은 급성단핵구성 백혈병의 혈액으로 부터 배양된 단핵구 특성이 있는 THP-1세포주를 이용하여 카드뮴과 아연의 IL-6 분비에 대한 영향과, 카드뮴의 농도에 따른 IL-6 mRNA 발현의 변화를 관찰하였다.

대상 및 방법

1. 세포주 및 세포배양

사람 단핵구 세포주, THP-1는 한국세포주은행으로부터 구입하여 본 실험에 사용하였다. 세포배양은 10 % fetal bovine serum 및 penicillin(100 IU/ml), streptomycin(100 ug/ml)이 함유된 RPMI 1640(Gibco BRL)을 이용하여 5 % CO_2, 36 ℃하에서 유지 배양하면서 실험하였다. 각 계대배양시 trypan blue dye exclusion 방법으로 세포생존율을 산정하여 생존세포수가 5×10^5 cells/ml 되도록 하여 24시간 배양한 후 카드뮴은 $CdCl_2$(Sigma Chemical), 아연은 $ZnCl_2$(Sigma chemical)를 최종농도 0.01~0.1 mM 되도록 처리하여 배양하였다. 카드뮴 및 아연처리 후 6시간에서 카드뮴과 아연 농도별로 hemocytometer chamber를 이용 trypan blue dye exclusion방법으로 세포활성도를 측정하였다.

2. IL-6 분비량 측정

IL-6의 분비를 유도하기 위하여 100 ng/ml lipo-polysaccharide(LPS)를 카드뮴, 아연과 함께 처치하고 세포배양 6시간 후 세포배양액의 상층액을 모아서 Interleukin-6[(h)IL-6] human, ELISA

system(Amersham Life Science, England)을 이용하여 IL-6의 분비량을 측정하였다.

IL-6 측정방법은 IL-6에 대한 항체가 코팅된 microtitre plate에 biotinylated antibody 50 ul를 넣은 다음 약물처리한 세포배양 상층액을 50 ul 넣은 후 실온에서 2시간 방치한 다음 세척하였다. 그 다음 streptavidine-HRP 용액을 100 ul을 넣고 실온에서 30분간 방치한 다음 TMB substrate 용액 100 ul를 추가하여 반응시킨 후 정지용액을 넣고 450 nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선을 작성하여 IL-6의 농도를 산출하였으며 세 번 반복실험을 실시하였다.

3. RNA 분리

RNA분리는 RNeasy total RNA Kits(Qiagen)를 이용하여 분리하였다. 분리방법은 세포를 β-mercaptoethanol이 첨가된 lysis Buffer RLT로 용해시킨 다음 QIA shredder를 이용하여 세포를 homogenization시킨후 3분간 full speed로 원심한 후 70 % ethanol(1 vol)을 넣고 RNeasy spin column에 옮긴 후 15초간 10,000 rpm으로 원심하였다. Spin column을 wash buffer RW1과 wash buffer RPE로 2번 세척한 후 full speed로 2분간 원심하고 DEPC(diethylpyrocarbonate)-treated water로 RNA를 분리한 다음 spectrophotometer 260 nm에서 RNA농도를 측정하고 영하 20 ℃에서 보관하면서 사용하였다.

4. 역전사 - 중합효소연쇄반응

GeneAmp^{R} RNA PCR kit(Perkin-Elmer Cetus, USA)를 이용하여, 분리된 RNA를 역전사효소(reverse transcriptase)로 cDNA를 합성하기 위한 역전사(reverse transcription)반응을 실시하고, 그 역전사 산물을 이용하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction)을 실시하였다. 역전사반응은 분리된 RNA 4 ug을 oligo dT(16 mer)를 사용하여 20 μl 용량으로 시행하며 반응혼합액의 조성은 RNA 4 μg, 5 mM $MgCl_2$, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH8.3), 1 mM dATP, 1 mM dTTP, 1 mM dCTP, 1 mM dGTP, 1 U/μl RNase inhi-bitor, 2.5 U/μl MuLV reverse transcriptase, 2.5 μM Oligo $d(T)_{16}$이며, 반응조건은 42 ℃ 1시간, 99 ℃ 5분, 5 ℃ 5분으로 하였다.

중합효소연쇄반응은 10X reaction buffer(15 mM $MgCl_2$, 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl pH 8.3) 5 μl와 10 mM의 dNTPs(dATP, dCTP, dGTP 및 dTTP) 각 1 μl 씩, 30 μM IL-6 gene (641 bp) sense(5' TCATGAACTCCTTCTC-CACACTCTCC3') 및 antisense primer (5' CTACATTTGCCAAAGAGCCCTCAG3')를 각각 1 μl를 넣은 혼합액에 역전사 반응시킨 cDNA 반응혼합액 1 μl와 2.5 U Taq polymerase를 넣은 후 총 50 μl 되도록 증류수를 첨가하여 용량을 맞추고 mineral oil을 중층한 후 DNA thermal cycler (Perkin Elmer corporation)를 사용하여 실시 하였다. PCR반응은 DNA denaturation은 95 ℃ 1분, annealing은 56 ℃~62 ℃ 1분, elongation은 72 ℃ 1분으로 하여 35 cycle을 실시하였다.

증폭된 PCR산물 10 ul를 10 % agarose gel에 전기영동한 후 ethidium bromide용액으로 염색하고 UV-transilluminator상에서 사진 촬영하였다.

5. 통계처리

측정치 평균치의 비교는 두군 간은 t-test, 세군 이상은 ANOVA를 시행한 후 Scheffe 방법으로 다중비교를 실시하였고 유의수준은 5 %로 하였다.

결 과

THP-1 세포주에 lipopolysaccharide(LPS)와 0.01, 0.05, 0.1 mM $CdCl_2$, $ZnCl_2$를 각각 처치 후 6시간이 경과한 후 세포활성도를 측정한 결과 0.1 mM $CdCl_2$ 처리한 군에서 대조군에 비해 세포활성도가 86.6 %로 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 아연과 LPS 처리군에서는 세포활성도가 대조군과 유의한 차이가 없었다(Fig. 1).

세포배양 상층액에서 IL-6 분비량을 측정한 결과 LPS로 자극을 주지 않은 대조군에서 IL-6 분비량이 4.42 pg/ml이었으며, LPS로 자극을 하지 않고 $CdCl_2$, $ZnCl_2$ 그리고 EDTA를 각각 단독으로 처치한 군의 IL-6분비량은 LPS로 자극을 주지 않은 대조군과 차이가 나타나지 않았다. 그러나 LPS를 처리한 군에서는 IL-6 분비량이 35.69 pg/ml으로

IL-6분비가 유도되어 나타났으므로, $CdCl_2$, $ZnCl_2$의 IL-6분비에 미치는 영향에 대한 실험에서는 LPS를 THP-1세포에 같이 투여하여 실험을 실시하였다. 0.01, 0.05 mM $CdCl_2$ 처치군에서 IL-6 분비량이 대조군(LPS 투여)에 비하여 유의하게 증가되었으며($p<0.05$), 0.1 mM $CdCl_2$ 처치군에서는 유의하게 감소됨을 관찰할 수 있었다($p<0.05$). $ZnCl_2$ 처치군은 농도가 증가함에 따라 IL-6의 분비량이 증가되어 나타났다($p<0.05$). 또한 EDTA를 처리한 군에서의 IL-6의 분비량은 대조군과 차이가 없었다(Fig. 2). $CdCl_2$에 의한 IL-6의 분비량이 $ZnCl_2$와 EDTA에 의해 변화되는 양상을 알아보기 위하여, $CdCl_2$와 동일한 농도의 $ZnCl_2$와 EDTA를 병행하여 처리하였다. 그 결과 0.1 mM $CdCl_2$에서 $CdCl_2$와 $ZnCl_2$, $CdCl_2$와 EDTA 병행 처치군 모두에서 IL-6의 분비량이 $CdCl_2$ 단독 처치군보다 유의하게 증가되어 나타남을 관찰할 수 있었다($p<0.05$) (Fig. 3).

THP-1 세포에서의 $CdCl_2$에 의한 IL-6 mRNA 발현의 변화를 알아보기 위하여 $CdCl_2$를 6시간 처치한 결과, 카드뮴 농도에 따라 일정한 용량-반응 변화는 나타나지 않았으나, 0.08, 0.1 mM $CdCl_2$ 처리군에서 각각 대조군에 비해 IL-6 mRNA의 발현의 정도가 감소되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

고 찰

본 실험은 사람 단핵구세포(THP-1)에서 IL-6의

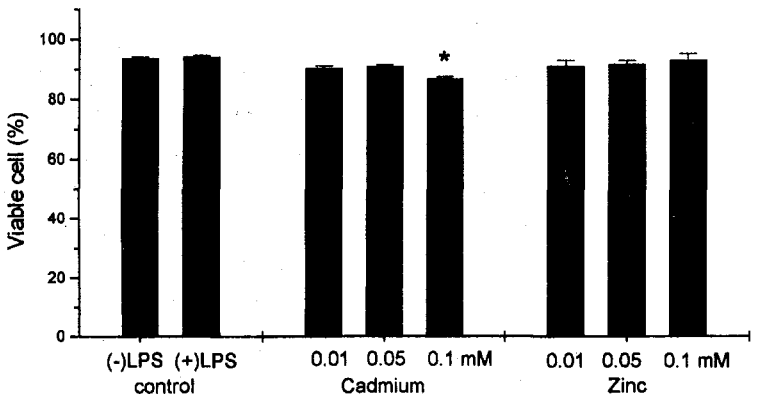

Fig. 1. Effect of $CdCl_2$ and $ZnCl_2$ exposure on the THP-1 cell viability, as measured by the trypan blue dye exclusion test.
* : significantly different from control groups ($p<0.05$).

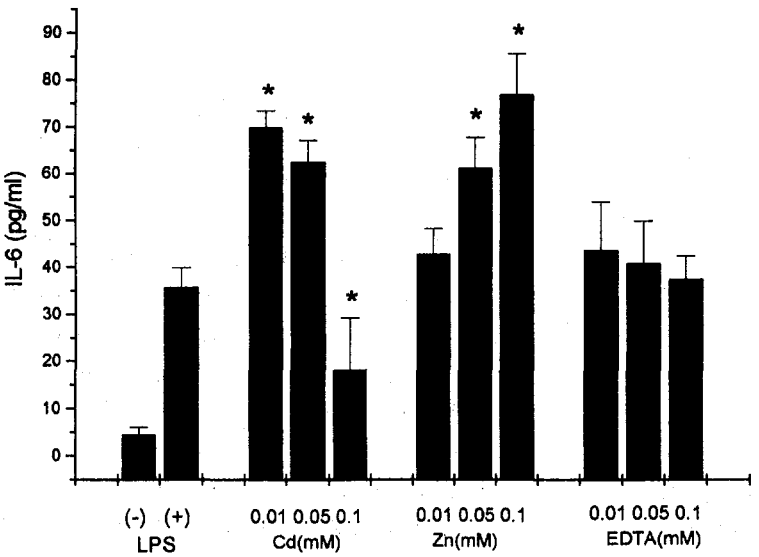

Fig. 2. Effect of $CdCl_2$, $ZnCl_2$, and EDTA exposure on IL-6 production in THP-1 cells.
* : significantly different from (+)LPS control group($p<0.05$).
Controls are THP-1 cells that received no LPS(-LPS) and 100 ng/ml LPS (+LPS).

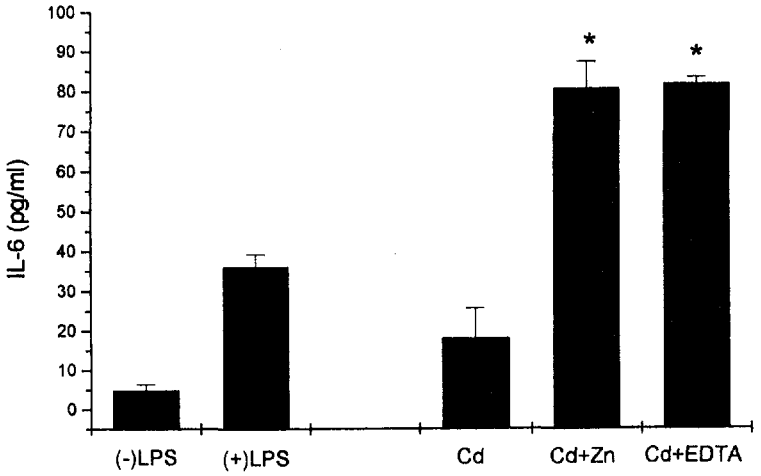

Fig. 3. Effect of $ZnCl_2$ and EDTA combined with $CdCl_2$ exposure on IL-6 production in THP-1 cells. THP-1 cells were exposed to 0.1 mM $CdCl_2$, and equimolar concentrations of $ZnCl_2$ and EDTA.
* : significantly different from $CdCl_2$ treated group($p<0.01$) and (+) LPS control group.

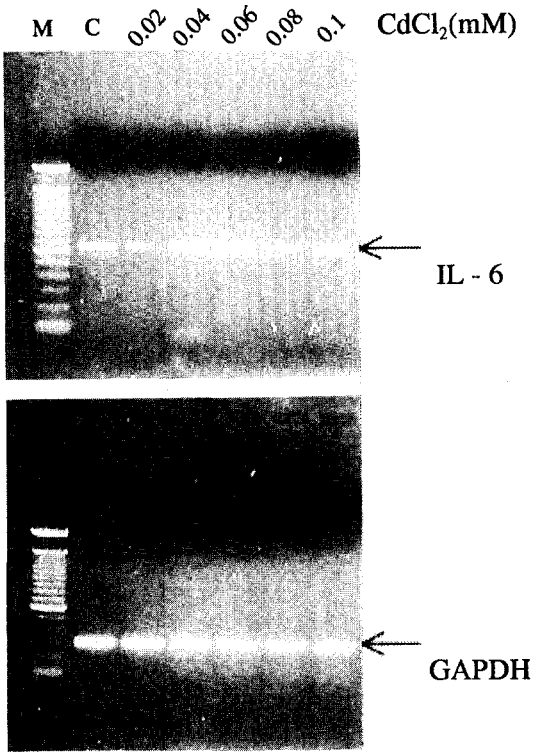

Fig. 4. Electrophoretic analysis of RT-PCR products from control and $CdCl_2$ treated THP-1 cell for 6 hours. C and M represent control, and 100 bp size marker for molecular weight, respectively.

분비에 대한 카드뮴과 아연의 영향을 알아보았고 카드뮴에 의한 IL-6 분비 억제가 전사전단계에서 일어나는지를 알아보기 위해 IL-6 mRNA 발현의 변화를 조사하였다.

본 실험에서는 0.05 mM 이하의 저농도 카드뮴은 단핵구에서 IL-6 분비를 촉진시키고 0.1 mM 농도 카드뮴에서는 억제시키는 것으로 나타났다. 카드뮴은 T 임파구 세포 독성기전에서 저농도에서는 apoptosis를 일으키고, 50 uM 이상의 고농도에서는 세포괴사를 일으켜 세포사를 초래하고(Azzouzi 등, 1994), endonuclease를 억제하거나 자극하는(Lohmann과 Beyersmann, 1993) 등, 카드뮴의 투여량, 투여경로, 투여기간 그리고 투여된 종에 따라 면역반응이 억제 되거나 또는 촉진될 수도 있다는 연구보고(Theocharis 등, 1994)로 볼 때, 본 실험의 결과는 카드뮴이 농도에 따라 그 작용이 다르다는 것을 의미한다.

IL-6 분비 억제가 나타난 카드뮴 0.1 mM 농도는 세포의 활성도를 대조군에 비해 유의하게 낮게 나타낸 농도이나 아연이나 EDTA의 투여 후 IL-6의 분비가 회복되는 것으로 볼 때 세포 활성도의 저하 때문에 IL-6의 분비량이 떨어진 것으로 생각되지는 않는다. IL-6 분비를 억제한 카드뮴 농도가 IL-6 mRNA의 발현을 감소시키는 것으로 관찰 됨으로써 카드뮴은 전사전단계(pretranscription level)에서 IL-6의 분비를 억제한다는 것을 알 수 있으며 Funkhouser 등(1994)의 결과와 일치하는 소견이다.

아연은 단핵구에서 0.05 mM 이상의 농도에서 IL-6의 분비를 대조군에 비해 증가시켰으며, IL-6

분비를 억제한 0.1 mM 카드뮴과 0.1 mM 아연을 병행 처리했을 때는 아연을 단독 처리한 군과 같은 IL-6분비량을 나타내는 것을 관찰 할 수 있었다. 이러한 결과는 아연이 카드뮴의 IL-6분비 억제에 방어효과를 나타내는 것이라 할 수 있다. 아연은 카드뮴에 대해 항길항제로 작용하는 것으로 알려져 있다(Nocentini, 1987; Waalkes 등, 1991; Coogan 등, 1992; Kaji 등, 1992). 아연이 여러 장기에서 카드뮴의 작용에 나타내는 방어효과는 metallothionein(MT) 유도에 의한 효과로 알려져 있으나(Stacey와 Klaassen, 1981; Bracken과 Klaassen, 1987; Sendelbach 등, 1989; Sarkar와 Harford, 1991; Coogan 등, 1992; Piersma 등, 1993), Wahba 등(1994)은 MT는 카드뮴에 의한 독성이나 암화과정에 대한 아연의 방어효과에 중요한 역할을 하지 않는다고 하였으며, MT에 의한 방어라기 보다는 세포내의 카드뮴의 축적을 감소시켜 카드뮴의 세포독성에 내성을 가진다(Mishima 등, 1995)는 등의 서로 연구보고가 상이하므로, 추후 아연에 의한 카드뮴의 방어효과에 대한 기전에 관한 연구를 시행하여 그 기전을 밝혀야 할 것으로 생각된다.

본 실험에서 카드뮴의 IL-6 분비 억제가 전사전단계에서 일어나는 것으로 관찰 되었으므로 비특이적으로 이가 양이온에 작용하는 세포외 킬레이트 제재인 EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid)를 투여하여 IL-6분비에 대한 효과를 측정한 결과 카드뮴에 의해 억제된 IL-6의 분비가 카드뮴과 아연을 병행 투여한 군과 같은 정도로 회복 되었으며 대조군보다 더 높은 IL-6분비량을 나타내었다. 이러한 결과는 EDTA가 세포외 카드뮴을 킬레이트화 시킴으로서 카드뮴에 노출된 단핵구에서 IL-6분비를 억제시킨 것을 방지하며, 카드뮴의 이온화 형태인 Cd^{2+}의 작용에 의해 IL-6분비가 영향을 받는 다는 것을 나타내 주는 결과로 해석할 수 있다. Funkhouser 등(1994)의 연구 보고에서는 카드뮴과 EDTA를 병행하여 투여한 군에서 대조군과 비슷한 정도의 수준으로 IL-6분비량이 회복 되었음을 보고하였으며, 본 연구에서는 카드뮴과 EDTA를 병행하여 투여한 군이 대조군 보다 높은 IL-6분비량이 관찰 됨으로서 다른 결과를 얻었다. 그 이유를 명확히 설명할 수 없으며 LPS에 의한 IL-6분비 유도시간, 카드뮴 처리 시간, EDTA의 농도변화에 따른 IL-6 분비의 변화 등 많은 요인을 추측할 수 있으므로 추후 이에 대한 실험을 더 실시해야 할 것으로 사료 된다. 또한 단핵구에서의 IL-6분비량은 카드뮴, 아연처리 후 24시간에서는 대조군과 차이가 없었다. IL-6는 급성 염증반응의 일차적 조절작용을 하는 다형성의 기능을 가진 면역매개 물질로서 알려져 있으므로 IL-6 분비량에 대한 실험에서 시간적인 조건은 중요한 요소가 됨을 알 수 있다.

본 실험은 단핵구에서 IL-6 분비에 대한 카드뮴과 아연의 영향을 조사하였으나 카드뮴과 아연을 동일한 농도로 처리 비교함으로서 아연의 카드뮴 독성방어 효과에 대한 적절한 농도를 제시할 수 없었으며, 세포외 킬레이트제재인 EDTA의 농도 변화에 대한 카드뮴의 IL-6분비 영향의 변화 등을 볼 수 없었다는 점, 그리고 IL-6 mRNA의 발현양상을 정량적인 방법을 통하여 평가하지 않은 점 등이 결과 해석의 제한점이 될 수 있을 것으로 생각된다.

이상의 결과는 카드뮴이 단핵성 세포에서 IL-6와 같은 cytokine의 분비를 억제함으로서 면역독성을 나타내는 것을 알 수 있다. 또한 카드뮴에 의해 유도된 IL-6의 분비량이 IL-6 mRNA 발현의 억제로 전사전단계에서 억제되며, 아연에 의해 분비량이 회복됨으로써 아연이 카드뮴에 대한 방어효과가 있음을 시사한다.

추후 카드뮴의 저농도에서의 만성적인 영향에 대한 실험과 단핵구에서의 IL-6 분비에 미치는 영향과 아연의 카드뮴 방어효과의 기전에 관한 연구가 이루어 져야 할 것으로 생각된다.

요 약

목적 : 본 실험은 단핵구성 특성이 있는 THP-1 세포주를 이용하여 카드뮴이 IL-6의 분비에 미치는 영향과 아연의 방어효과를 조사하고자 하였으며, 또한 카드뮴의 농도에 따른 IL-6 mRNA 발현의 변화를 관찰하고자 하였다.

방법 : THP-1 세포주에 lipopolysaccharide (LPS)와 0.01~0.1 mM $CdCl_2$, $ZnCl_2$를 각각 처치 후 6시간이 경과한 세포배양액에서 IL-6 분비량을 측정하였다.

결과 : 카드뮴 농도 0.1 mM에서 IL-6 분비량이

유의하게 감소됨을 관찰할 수 있었다($p<0.05$). $ZnCl_2$는 농도가 증가함에 따라 IL-6의 분비량이 증가되어 나타났다. 카드뮴에 의한 IL-6의 분비량이 $ZnCl_2$와 EDTA에 의해 변화되는 양상을 알아보기 위하여, 카드뮴과 동일한 농도의 $ZnCl_2$와 EDTA를 병행하여 처리하였다. 그 결과 카드뮴 농도 0.1mM에서 카드뮴과 $ZnCl_2$ 처치군, 카드뮴과 EDTA 처치군 모두에서 IL-6의 분비량이 카드뮴 단독 처치군보다 증가되어 나타남을 관찰할 수 있었다. 카드뮴에 의한 IL-6 mRNA 발현의 변화를 알아보기 위하여 카드뮴을 처치한 결과, 카드뮴 농도에 따라 일정한 변화는 나타나지 않았으며 카드뮴 농도 0.08 mM과 0.1 mM에서 대조군에 비해 IL-6 mRNA의 발현의 정도가 감소되는 것을 관찰할 수 있었다.

결론 : 카드뮴이 단핵성 세포에서 IL-6와 같은 cytokine의 분비를 억제함으로서 면역독성을 나타내는 것을 알 수 있다. 또한 카드뮴에 의해 유도된 IL-6의 분비량이 IL-6 mRNA 발현의 억제로 전사전단계(pretranscription level)에서 억제되며, 아연에 의해 분비량이 회복됨으로써 아연이 카드뮴에 대한 방어효과가 있음을 시사한다.

참고문헌

Agarwal AK. Metabolic alteration in liver and testes of adult and new born rats following cadmium administration. Bull Environ Contam Toxicol 1988; 40:569-575.

Azzouzi BE, Tsangaris GT, Pellegrini O, Manuel Y, Benveniste J, Thomas Y. Cadmium induces apoptosis in a human T cell line. Toxicology 1994;88:127-139.

Borgman R, Au B, Chandra R. Immunopathology of chronic cadmium administration in mice. Int J Immunopharmacol 1986;8(7): 813-817.

Bracken WM, Klaassen CD. Induction of metallothionein in rat primary hepatocyte cultures: Evidence for direct and indirect induction. J Toxicol Environ Health 1987;22:163-174.

Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, Andus T, Geiger T, Trullenque R, Fabra R, Heirich PC. Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. FEBS Lett 1989;242(2):237-239.

Coogan TP, Bare RM, Waalkes MP. Cadmium-induced DNA strand damage in cultured liver cells: reduction in cadmium genotoxicity following zinc pretreatment. Toxicol Appl Pharmacol 1992;113:227-233.

Descotes J. Immunotoxicology of cadmium. IARC Sciencetific Publications 1992(118). p385-390.

Dudley RE, Gammal LM, Klaassen CD. Cadmium-induced hepatic cadmium metallothionein in nephrotoxicity. Toxicol Appl Pharmacol 1985;77: 414-426.

Eaton DL, Stacey NH, Wong KL, Klaassen CD. Dose-response effects of various metal ions on rat liver metallothionein, glutathione, heme oxygenase, and cytochrome P-450. Toxicol Appl Pharmacol 1980; 55:393-402.

Faeder EJ, Chanet SQ, King LC. Biochemical and ultrastructural changes in livers of cadmium treated rats. Toxicol Appl Pharmacol 1977; 39: 473-487.

Funkhouser SW, Martinez-Maza O, Vredevoe D. Cadmium inhibits IL-6 production and IL-6 mRNA expression in a human monocytic cell line, THP-1 Environ Res 1994;66:77-86.

Goering PL, Klaassen CD. Tolerance to cadmium-induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment. Toxicol Appl Pharmacol 1984a;74: 308-313.

Goering PL, Klaassen CD. Zinc-induced tolerance to cadmium hepatotoxicity. Toxicol Appl Pharmacol 1984b;74:299-307.

Kaji T, Mishima A, Koyanagi E. Possible mechanism for zinc protection against cadmium cytotoxicity in cultured vascular endothelial cells. Toxicol 1992;76:257-270.

Koller LD. Immunotoxicology of heavy metals. Int J Immunopharmacol 1980;2:269-279.

Lehman LD, Andrew GK, Klaassen CD. Mechanism of regulation of rat hepatic metallothionein-I and metallothionein-II levels following administration of zinc. Toxicol Appl Pharmacol 1988;92:1-9.

Lohmann RD, Beyrsmann D. Cadmium and Zinc mediated changes of the Ca^{2+}-dependent endonuclease in apoptosis. Biochem Biophys Res Commun 1993;190(3):1097-1103.

Mishima A, Kaji T, Yamamoto C. Zinc-induced tolerance to cadmium cytotoxicity without metallthionein induction in cultured bovine aortic endothelials cells. Toxicol Lett 1995;75:85-92.

Nocentini S. Inhibition of DNA replication and repair by cadmium in mammalian cells. Protective interaction of zinc. Nucleic Acids Res 1987; 15:4211-4225.

Navarro S, Debili N, Bernaudin JF, Vainchenker W, Doly J. Regulation of the expression of IL-6 in human monocytes. J Immunol 1989;142(12): 4339-4345.

Otsuka F, Ohsawa M. Differential susceptibility of T-and B-lymphocyte proliferation to cadmium: relevance to zinc requirement in T-lymphocyte proliferation. Chem Biol Interact 1991;78: 193-205.

Payette Y, Lachapelle M, Daniel C, Bernier J, Fournier M, Krzystyniak K. Decreased interleukin-2 receptor and cell cycle changes in murine lymphocytes exposed in vitro to low doses of cadmium chloride. Int J Immunopharmacol 1995;17(3):235-246.

Piersama AH, Roest RP, Haakmat-Hoesenie AS, Achterberg TA, Mummery CL. Cadmium-induced inhibition of proliferation and differentiation of embryonal carcinoma cells and mechanistic aspects of protection by zinc. Teratology 1993;48:335-341.

Sarkar B, Harford C. Induction of metallothionein by simultaneous administration of cadmium(II) and zinc(II). Biochem Biophys Res Commun 1991;177(1):224-228.

Scuderi P. Differential effects of copper and zinc on human peripheral blood monocyte cytokine secretion. Cellular Immunology 1990;126:391-405.

Sendelbach LE, Klaassen CD. Kidney synthesizes less metallothionein than liver in response to cadmium chloride and cadmium-metallothionein. Toxicol Appl Phamarcol 1988;92:95-102.

Sendelbach LE, Bracken WM, Klaassen CD. Comparisons of the toxicity of $CdCl_2$ and Cd-metallothionein in isolated rat hepatocytes. Toxicol 1989;55;83-91.

Stacey N. Effects of cadmium and zinc on spontaneous and antibody- dependent cell-mediated cytotoxicity. J Toxicol Environ Health 1986;118: 293-300.

Stacey NH, Klaassen CD. Interaction of metal ions with cadmium-induecd celluar toxicity. J Toxicol Environ Health. 1981;7:149-158.

Steffensen IL, Mesna OJ, Andruchow E, Namork E, Hylland K, Andersen RA. Cytotoxicity and accumulation of Hg, Ag, Cd, Cu, Pb and Zn in human peripheral T and B lymphocytes and monocytes in vitro. General Pharmacology 1994; 25(8):1621-33.

Theocharis SE, Souliotis VL, Panayiotidis PG. Suppression of interleukine-1 and tumor necrosis factor- biosynthesis by cadmium in in vitro activated human peripheral blood mononuclear cells. Arch Toxicol 1994; 69:132-136.

Waalkes MP, Kovatch R, Rehm S. Effect of chronic dietary zinc deficiency on cadmium toxicity and carcinogenesis in the male Wistar [Hsd :(WIBR)] rat. Toxicol Appl Pharmacol 1991;108: 448-456.

Wahba ZZ, Miller MS, Waalkes MP. Absence of changes in metallothionein RNA in the rat testes made refractory to cadmium toxicity by zinc pretreatment. Hum Exp Toxicol 1994;13:65-67.