

水銀 Ion 이 白鼠臟器內 Lactic Dehydrogenase Isozyme에 미치는 影響

李 海 金

(Received November 15, 1974)

Hae Keum Lee: Effects of Mercuric Ion on Lactic Dehydrogenase Isozyme in the Organs of Albino Rats.

Abstract—In the rats administered mercuric chloride(1mg/kg/48 hrs *i.p.*), it was found that LDH₁ and LDH₂ were increased in heart, brain and kidney as well as LDH₅ increased in liver and muscle in the duration of sixteen days. After the sixteen days of administration, the LDH isozyme patterns in the above mentioned organs were found to be irregularly changed. Considerable amount of mercury accumulation in liver and kidney were found, and especially the mercury accumulation in kidney was notable.

最近 煤煙이나 廢水에서 排出되어 나오는 有害金屬化合物類는 産業과 都市의 擴張에 따라 漸次的으로 늘어나 直接間接으로 우리의 環境을 汚化시켜주며 나아가서는 人畜에 莫甚한 被害를 주어 公害問題로 擡頭되기 始作하였다. 有害金屬化合物中 特히 水銀化合物은 人畜에 미치는 被害가 甚하여 社會的인 問題가 되고 있을뿐만 아니라 水銀公害는 世界的으로 큰 關心事가 되고 있다.

水銀化合物에 依한 被害狀況은 各國에서 許多하게 實例가 報告되고 있으나 其中 가장 可恐할만한 例는 1953년부터 1960년에 걸쳐 日本 水俣灣의 臨海工業地帶를 中心으로 일어난 水銀中毒症인 Minamata病과 1964年 역시 日本 新瀉縣 阿賀野川流域에서 일어난 이와 類似한 水銀中毒症으로 많은 人命被害를 준 事實을 들을 수 있다. 이와같이 水銀化合物이 人畜에 甚한 被害를 주고있어 生體에 미치는 影響에 關한 研究는 毒性和 臨床病理學的인 面에서 追求하기 始作하여 많은 報告가 發表되어 왔다.

戶木等¹⁾은 白鼠에 ethyl磷酸水銀을 投與하여 病理學的인 變化를 觀察하였고 Takeda²⁾, Ulfv-arson³⁾, 等은 白鼠에 ²⁰³Hg 標識 水銀化合物을 投與하여 各 臟器中 水銀分布相을 調査하였다. 石倉⁴⁾, 與那霸等은⁵⁾ mouse에 數種水銀化合物을 投與하여 各臟器中 水銀蓄積量과 中毒症狀

發顯期間을 比較檢討하였고, 二塚等⁶⁾은 水俣灣附近地域의 中學生을 對象으로 健康狀態와 精神神經學的 調查를 實施한바 있다.

이와같이 水銀中毒에 關하여는 主로 病理學的인 所見과 臨床化學的인 面에서만 主로 研究가 이루어지고 있었으며 生化學的인 面에서 衛生化學的인 見地에서 生體內代謝酵素에 미치는 影響에 關하여 이루어진 研究는 거의 없다. 더우기 energy代謝와 密接한 關聯이 있는 lactic dehydrogenase (LDH)나 LDH isozyme에 關聯시켜 研究된 報告는 稀少하다.

最近 Cornish等⁷⁾이 白鼠에 鹽化第二水銀을 一時的으로 多量 投與하여 急性中毒을 惹起시켜 臟器의 病理組織學的 所見과 아울러 血清中 LDH isozyme의 pattern變化를 觀察하여 LDH isozyme이 重金屬으로 惹起된 臟器損傷을 豫知하는데 有用한 手段이 되리라는 것을 示唆한 報告가 있을 뿐이다.

著者는 今般 水銀化合物을 少量씩 長期的으로 投與하였을 때 일어나는 慢性中毒症이나, 水銀暴露의 症候로서 일어날 수 있다고 생각되는 血清 및 各種臟器內 LDH와 LDH isozyme의 pattern 변화와 이에 따라 惹起되는 組織學的 變化에 關한 研究는 아직 이루어진바 없어 公害物質에 關한 衛生化學的인 研究의 一環으로서 金屬化合物中 크게 危險視되고 있는 水銀化合物로서 鹽化第二水銀을 擇하여 白鼠에 微量씩 連續投與하고 組織內에 蓄積되는 水銀量과 그로 因하여 惹起되는 各種 組織內 LDH isozyme의 pattern變化 및 LDH活性度の 消長을 究明하는 同時에 組織學的 所見도 아울러 觀察하여 比較檢討한바 意義있는 結果를 얻었기 이에 報告하는 바이다.

實 驗 方 法

實驗材料—體重 150~200g의 白鼠(우)에 48時間마다 계속적으로 $HgCl_2$ 溶液을 20日間 腹腔內에 注射(1mg/kg)하고 48時間마다 1회에 6마리씩 10회에 걸쳐 屠殺하여 腦, 心臟, 肝, 臟 및 大腿筋을 摘出하고 血液으로부터 血清을 分離하여 實驗材料로 使用하였다. 한편 正常群의 上記 組織 및 血清을 對照群의 實驗材料로 使用하였다.

電氣泳動法에 의한 LDH Isozyme의 分離同定—組織均質液을 cellulose acetate strip (Sepraphore III, Gelman) 原點에 線狀으로 塗布하였다. 塗布가 끝난 cellulose acetate strip을 電氣泳動裝置(Shandon)에 올려놓고 veronal buffer (pH 8.6, Ion強度 0.7)를 使用하여 40分間 電氣泳動(0.8mA/cm)시켜 LDH isozyme을 分離하였다. 電氣泳動이 끝난 strip은 Preston法⁸⁾에 따라 LDH isozyme을 發色시켜 乾燥하고 Densitometer (Quick Scan No.1, Helena Co.)로 LDH isozyme의 活性分布比를 百分率로 求하였다. LDH isozyme의 名稱은 Webb⁹⁾의 方法에 따라 陽極側으로 移動하는 順으로부터 $LDH_1 \sim LDH_5$ 로 하였다.

組織 및 血清中 總活性度測定—組織 0.1~0.2g를 精粹하여 glass homogenizer에 取하고 50倍量의 phosphate buffer (pH 7.4)를 加하여 氷浴中에서 均質하게 한 다음 4,000 rpm에서

遠心分離하고 그 上澄液을 取하여 腦는 500倍, 心臟과 筋肉은 2,000倍, 肝과 腎臟은 1,000倍 그리고 血清은 6倍로 各各 稀釋하여 Berger 및 Broida法¹⁰⁾(以下 B.B)에 따라 波長 525nm 에서 spectrophotometer(Spectronic 20)로 測定하였다. 測定에 使用한 試藥은 Cabaud Wroblewski法¹¹⁾에 따라 調製하여 使用하였다.

組織中 水銀定量—臟器組織을 精秤(0.2~3g)하여 與那霸法⁵⁾에 따라 濕式灰化한 다음 Hatch and Ott法¹²⁾에 準하여 原子吸光光度計(Perkin Elmer Model 303 & Mercury analysis set)로 波長 253.7nm에서 吸光度를 測定하였다.

組織學的 檢査—肝臟과 腎臟을 10% formaldehyde 液으로 固定시키고 paraffin處理한 後 Harris hematoxylin液과 stock alcoholic eosine液으로 染色하였다.

實 驗 結 果

LDH Isozyme의 Pattern變化—正常群과는 달리 HgCl₂投與群의 腦, 心臟, 肝臟, 腎臟, 筋肉 및 血清에 있어서 LDH isozyme pattern 이 變化되었는데 그 結果는 Table I-VI과 같다.

即 腦에 있어서 LDH₁은 6일부터 14일까지 增加되었으나 16日以後 LDH₁과 LDH₂가 減少된 反面, LDH₅는 14일까지 減少되었다가 16日以後 LDH₄와 LDH₅가 增加되었다(Table I).

Table I—Change of brain LDH isozyme activities of rats administered mercuric chloride (1mg/kg/48 hrs *i.p.*) for two to twenty days.

Day	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
0	23.8±1.55 ^{a)}	25.9±2.65	20.0±2.50	18.4±0.99	10.9±1.85
2	25.1±3.60	23.7±1.64	20.1±3.22	21.7±1.35*	9.5±1.34
4	27.3±4.00	24.0±2.36	15.1±2.94*	19.0±3.16	14.6±1.43*
6	27.8±4.42*	25.6±1.35	21.4±2.72	17.8±2.09	7.4±2.47*
8	30.4±1.67*	25.6±1.67	21.3±1.58	22.7±3.02*	
10	27.7±4.50*	23.0±2.84	19.5±2.95	19.0±1.99	10.9±3.36
12	30.7±4.08*	28.0±3.08	20.3±5.25	21.1±3.20	
14	34.2±6.23*	29.9±2.96*	21.6±3.99	14.1±5.72	
16	20.8±1.70*	19.7±2.23*	18.0±1.14	23.2±1.72*	18.4±2.45*
18	23.6±2.42	20.8±0.99*	21.5±0.85	19.7±1.04*	14.5±1.93*
20	20.5±1.69*	21.7±1.47*	19.6±1.86	21.3±1.20*	17.0±2.59*

a) %±S.D. *Significant. n=6

心臟에 있어서 LDH₁과 LDH₂는 4일부터 增加되었는데 16日에는 모두 減少되었다. LDH₃은 12日까지 減少되었으나 16日에 急激히 增加된 後 다시 減少되었다. 한편 LDH₄는 增加傾向을 보였고 LDH₅는 14日까지 減少되었다(Table II).

肝臟에 있어서 LDH₅는 6일부터 12日까지 增加되었으나 16日以後 急激히 減少되었고 LDH₂는 이와는 反對로 6일부터 14日까지 減少되었으나 16日에는 LDH₅의 約 2倍로 急激히 上昇

Table II—Change of heart LDH isozyme activities of rats administered mercuric chloride (1mg/kg/48 hrs *i.p.*) for two to twenty days.

Day	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
0	28.9±1.81 ^{a)}	31.5±1.61	17.3±1.50	12.5±1.39	9.8±4.02
2	31.0±2.00	33.0±3.68		25.0±3.36*	11.2±3.62
4	33.3±2.09*	36.8±1.29*	12.7±2.37*	13.5±1.53	3.7±0.92*
6	39.0±2.62*	36.9±1.39*	7.1±3.33*	10.5±1.56*	7.0±1.93
8	33.8±4.24*	32.8±2.50	7.3±2.67*	19.4±2.82*	9.0±5.07
10	37.3±9.22*	35.2±6.74	7.3±7.32*	20.2±4.44*	
12	42.6±5.65*	34.3±3.04*	11.8±6.24*	10.9±3.32	
14	32.2±3.78	34.0±3.09	12.9±5.36	17.0±1.84*	3.9±1.89*
16	22.6±1.98*	27.1±2.15*	30.4±4.54*	10.0±1.98*	10.1±2.31
18	30.2±3.98	32.0±1.73	9.4±4.01*	18.1±2.63*	10.3±1.86
20	26.7±2.58	30.6±1.60	15.0±1.64*	16.6±3.47*	11.2±1.20

a) %±S.D. * Significant. n=6

된 후 減少되었다. LDH₁과 LDH₂는 各各 12日과 14日부터 出現된 後 계속 持續되었다 (Table III).

Table III—Change of liver LDH isozyme activities of rats administered mercuric chloride (1mg/kg/48hrs *i.p.*) for two to twenty days.

Day	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
0		29.7±3.16		21.6±4.77	48.6±4.21
2		23.1±9.78		31.8±2.99*	45.1±10.59
4		29.2±7.99		26.1±4.55	44.9±8.43
6		15.5±3.19*		24.1±4.95	60.5±6.85*
8		13.0±8.25*		23.5±5.08	63.5±9.84*
10		12.2±3.60*		26.8±4.46	61.3±5.66*
12	0.6±1.37 ^{a)}	15.0±6.42*		25.3±2.80	59.2±4.21*
14	2.0±4.92	19.1±5.88*	1.6±3.94	21.4±5.52	55.9±9.57
16	4.0±1.12	45.0±5.86*	15.5±4.75	15.4±2.66*	20.6±3.61*
18	2.7±4.69	22.3±5.41*	10.4±2.18	27.5±4.47*	38.8±3.76*
20	7.0±3.84	27.1±4.73	13.4±3.62	20.7±3.81	31.8±2.08*

a) %±S.D. * Significant. n=6

腎臟에 있어서 LDH₁과 LDH₂는 16日까지 增加되는 傾向을 나타내고 있으나 10日부터 LDH₁이 LDH₂보다 優勢하게 增加되었다. 그러나 LDH₃과 LDH₅는 減少되는 傾向을 나타냈고 LDH₄는 變化가 없었다(Table IV).

筋肉에 있어서 LDH₅는 8日부터 14日까지 增加되었는데 同期間中 LDH₂와 LDH₃은 減少되었다. LDH₁과 LDH₄는 큰 變化가 없었다(Table V).

血清에 있어서 LDH₅는 4日, 16日 및 20日에 各各 減少되었으나 LDH₁은 4日과 6日 그리고 16日 以後 增加되었고 LDH₃과 LDH₄는 큰 變化가 없었다(Table VI).

Tale IV—Change of kidney LDH isozyme activities of rats administered mercuric chloride (1mg/kg/48hrs *i.p.*) for two to twenty days.

Day	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
Control	23.6±2.06 ^{a)}	26.3±2.28	17.4±2.52	17.4±1.82	15.4±3.40
2	25.6±1.54	30.3±2.99*	9.6±1.37*	19.5±2.71	15.1±2.43
4	26.2±2.94	30.8±4.68*	11.4±5.07*	18.3±3.51	13.4±3.16
6	24.5±5.11	27.1±2.65	12.3±3.98*	19.3±6.57	16.7±2.76
8	26.5±2.90*	27.6±2.06	19.3±3.83	16.3±2.74	10.3±3.30*
10	29.2±3.06*	26.7±2.27	11.2±1.55*	20.6±3.95	12.3±4.49
12	34.6±10.43*	32.4±3.62*	14.1±3.11	16.6±9.70	2.4±4.32*
14	30.9±5.02*	28.8±1.39*	16.8±3.08	14.5±3.76	9.2±2.09*
16	32.4±2.26*	28.5±3.92	7.3±2.51*	15.3±2.58	16.7±1.83
18	27.0±4.81	24.1±3.01	13.6±2.70*	17.8±4.29	17.5±4.25
20	23.8±1.05	26.5±1.24	15.7±0.99	18.5±0.83	15.5±1.84

a) %±S.D.

* Significant.

n=6.

Table V—Change of muscle LDH isozyme activities of rats administered mercuric chloride (1mg/kg/48hrs *i.p.*) for two to twenty days.

Day	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
0	15.1±3.24 ^{a)}	17.3±2.94	18.4±2.83	18.9±2.96	30.4±5.93
2	11.1±8.50	12.7±5.37	14.0±5.99	21.0±4.85	41.3±14.52
4	11.1±5.23	15.6±3.67	21.4±4.00	16.1±4.15	35.9±6.92
6	11.4±5.74	15.8±2.54	18.5±5.57	20.6±1.51	33.7±3.30
8	14.9±4.10	15.8±4.26	11.2±3.60*	18.5±5.80	39.7±3.25*
10	15.2±5.89	13.2±2.82*	10.4±2.65*	20.8±2.56	40.5±7.26*
12	15.3±5.30	12.9±2.22*	12.7±0.48*	20.1±3.25	39.0±5.36*
14	13.7±7.19	12.3±4.51*	7.7±2.32*	17.6±1.34	48.7±12.28*
16	16.2±1.96	19.3±2.92	22.1±5.45	12.8±2.71*	29.7±4.60
18	9.9±4.96*	17.8±4.20	23.3±5.58	13.0±2.90*	36.1±2.60
20	12.7±5.98	18.2±6.58	23.2±2.55*	17.0±2.81	30.0±8.50

a) %±S.D.

* Significant.

n=6

Table VI—Change of serum LDH isozyme activities of rats administered mercuric chloride (1mg/kg/48hrs *i.p.*) for two to twenty days.

Day	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
0	17.3±8.23 ^{a)}	7.8±4.20	6.5±4.50	6.2±3.62	62.2±15.35
2	28.2±11.35	14.3±4.82*	10.4±5.47	3.5±3.12	43.6±17.85
4	31.5±10.57*	15.7±5.60*	7.8±6.21	4.5±5.60	40.8±17.45*
6	27.0±6.35*	12.5±4.28	8.8±4.80	1.6±8.58	43.2±21.40
8	26.5±7.82	11.2±3.86	2.5±3.10	1.5±3.65*	60.5±16.56
10	22.3±3.85	5.8±3.26	3.2±2.68	6.1±4.24	62.1±16.84
12	22.5±4.23	2.8±3.45*	3.7±2.50	7.8±6.27	63.2±17.32
14	24.4±5.16	4.5±2.25	10.2±4.23	8.7±6.46	52.2±18.23

16	40.5±8.25*	9.5±2.63	3.9±2.86	2.6±3.02	43.5±10.62*
18	36.7±5.43*	4.6±1.54	3.8±4.65	6.3±5.86	48.5±12.50
20	38.2±10.30*	8.3±3.85	6.1±4.80	8.2±6.42	39.2±14.36*

a) %±S.D. * Significant. n=6

總 LDH 活性度變化——總 LDH 活性度變化는 Table VII에서 보는보와 같이 腦, 心臟 및 筋肉에 있어서 有意한 增減의 差가 없었으나 肝臟과 血清에서 若干 增加되었다.

Table VII—Alterations of total LDH activities in the tissues of rats administered mercuric chloride (1mg/kg/48 hrs *i.p.*) for two to twenty days.

Day	Brain	Heart	Liver	Kidney	Muscle	Serum
	×10 ⁴ ×10 ⁴	×10 ⁴ ×10 ⁴	×10 ⁴ ×10 ⁴	×10 ⁴ ×10 ⁴	×10 ⁴ ×10 ⁴	×10 ³ ×10 ³
0	7.9±0.77	34.8±4.21	18.4±1.59	12.8±0.84	28.1±3.63	1.37±0.13
2	8.3±0.73	35.6±4.33	19.6±1.89	12.9±0.85	26.8±4.26	1.41±0.14
4	7.5±0.82	36.8±3.76	19.2±2.04	13.8±1.36	28.7±3.40	1.32±0.12
6	7.7±0.54	34.4±2.10	20.7±3.13	12.5±0.94	31.8±4.40	1.53±0.15*
8	7.3±0.68	41.2±6.79	22.6±3.46*	13.1±1.26	29.5±5.23	1.48±0.12
10	7.0±0.96	38.8±4.26	21.8±3.66*	12.3±1.14	28.9±3.29	1.87±0.31*
12	7.2±0.76	37.6±5.33	22.1±2.87*	13.1±0.76	28.5±2.71	1.83±0.28*
14	8.3±0.73	33.6±3.86	20.9±3.85	14.1±1.38	30.8±4.33	1.32±0.13
16	7.1±0.84	36.3±4.52	19.8±2.17	13.6±0.93	26.7±4.26	1.47±0.14
18	7.6±0.67	38.2±3.79	18.7±3.25	14.1±1.42	28.8±3.87	1.41±0.14
20	8.1±0.52	40.2±5.67	19.1±1.89	12.6±1.33	31.9±3.65	1.47±0.13

Numbers are B-B units of LDH per gram of fresh tissues.

*Significant. n=6

水銀蓄積量——肝臟과 腎臟에서 水銀이 계속 蓄積되었으며 그 結果는 Table VIII과 같다.

Table VIII—Accumulation of mercury in the kidney and liver of rats administered mercuric chloride (1mg/kg/48 hrs *i.p.*) for two to twenty days.

Day											
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Kidney	0.031	22.2	50.6	63.0	111.6	123.1	119.9	135.1	141.4	155.1	156.4
	±0.009 ^{a)}	±4.70	±7.45	±12.07	±11.36	±11.60	±13.07	±14.26	±19.04	±16.22	±17.23
Liver	0.012	0.33	0.55	0.62	0.81	0.92	0.91	1.13	1.07	1.23	1.41
	±0.006	±0.153	±0.088	±0.150	±0.270	±0.210	±0.325	±0.193	±0.181	±0.373	±0.320

a) μg Hg/g ±S.D. n=6

組織學的 變化. 腎臟——正常群; 絲球體를 中心으로 近位曲尿細管, 遠位曲尿細管, 헨리코리 및 集合尿細管을 構成하는 細胞들이 完全한 形態를 維持하고 있다(Fig. 1). 4日群; 近位曲尿細管의 上皮가 破壞된 樣相을 觀察할 수 있었으며 內腔에 滲出物이 차있었으며 尿細管

사이에 울혈현상이 多少 觀察되었다(Fig. 2). 8日群; 近位尿管의 損傷과 內腔의 滲出物이 4日群보다 더 많이 보였다. 12日群; 近位尿管 上皮의 損傷을 除外하고는 8日群에 比하여 다른 異狀은 보이지 않았다. 16日群; 近位尿管의 上皮損傷이 더욱 甚하여졌으며, 遠位尿管의 上皮損傷外에도 滲出物이 內腔에까지 많이 차 있음이 觀察되었다. 20日群; 近位 및 遠位尿管의 上皮損傷과 內腔에 滲出物이 가득차 있었다.

肝 臟—正常群; 中心靜脈을 中心으로한 肝細胞를 비롯하여 肝細胞의 細胞質이 比較的 充實하며 間或 二核細胞가 보일뿐 組織學上 別다른 異狀을 觀察할 수 없었다(Fig. 3).

4日群; 門靜脈 周邊部の 肝細胞에 脂肪이 浸積된 細胞가 多數 觀察되었으며 退行性變化를 보이는 細胞들이 多少 觀察되었다(Fig. 4).

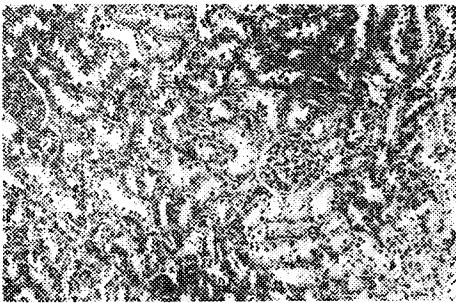


Fig. 1—Kidney tissue from normal rat ($\times 100$).

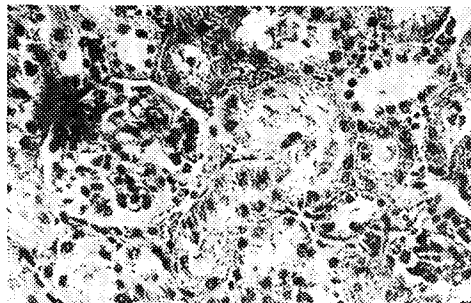


Fig. 2—Kidney tissue from rat exposed to mercuric chloride ($\times 450$).

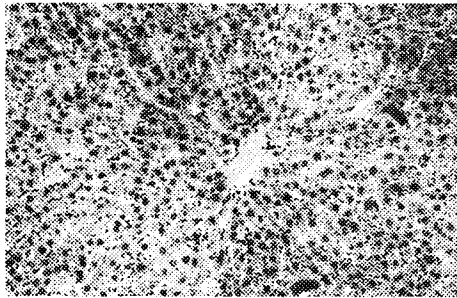


Fig. 3—Liver tissue from normal rat ($\times 100$).

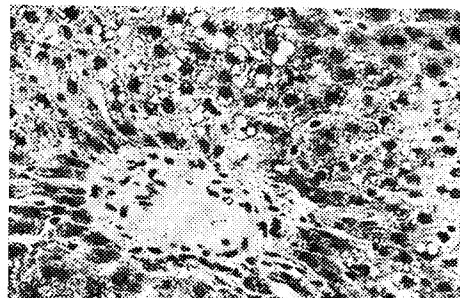


Fig. 4—Liver tissue from rat exposed to mercuric chloride ($\times 450$).

8日群; 門脈野附近에 脂肪浸積이 甚한 4日群에 比하여 8日群에서는 中心靜脈 가까이까지도 脂肪의 甚한 浸積이 觀察되었다. 12日群; 肝細胞의 退行性變化는 少數觀察되었으나 脂肪의 細胞內浸積은 매우 적어 4日群과 8日群과는 다른 樣相을 보여주었다. 16日群; 12日群과는 달리 門脈野를 中心으로하여 肝細胞全般에 걸쳐 脂肪의 甚한 浸積相이 觀察되었다. 20日群; 中心靜脈과 門脈野 全般에 걸쳐 즉, 肝組織 全般에 걸쳐 脂肪의 甚한 浸積으로 因하여 細胞質이 거의 없는것 같이 觀察되었다.

考 察

LDH Isozyme의 Pattern變化—腦에 있어서 LDH₁이 增加되는 反面 LDH₅가 減少되어가는 事實은 腦가 好氣性組織으로서 微量의 HgCl₂의 影響으로 好氣性代謝가 異狀의으로 促進되고 있음을 示唆하고 있다. 그러나 16日以後 LDH₁과 LDH₂가 減少되고 LDH₄와 LDH₅가 增加되는 現象은 好氣性代謝가 抑制되는 反面에 嫌氣性代謝가 增加되고 있음을 示唆하고 있다. 組織學的所見으로 보아도 이때 肝臟, 腎臟이 損傷되어 이러한 變化가 惹起될 수 있는 可能性을 暗示하고 있다. 數種 有機水銀化合物을 白鼠와 mouse에 계속적으로 投與하였을 때 中樞神經障害症狀이 온다는 報告^{1,4)}가 있는데 이는 水銀化合物이 腦代謝에 影響을 주고 있다는 症候라 하겠다. 本實驗에서는 中樞神經障害症狀를 觀察하지 못하였으나, 腦LDH isozyme pattern에 變化가오고 있는 事實로 보아 그와같은 障害가 나타나리라는 것을 豫測할 수 있다. 心臟에 있어서 LDH₁과 LDH₂는 12日까지 增加되었다가 16日에 急激히 減少되는 反面 LDH₃은 12日까지 減少되었다가 16日에 急激히 上昇되어 LDH₁과 LDH₂ 보다 더 높은 活性을 나타내고 있다. 이는 LDH₁과 LDH₅의 變化가 心臟疾患의 診斷에 利用될 뿐만 아니라¹³⁾ 心筋硬塞症에 있어서 LDH₁과 LDH₂가 增加된다는 報告^{14,15)}로 미루어 볼때, 本實驗에서도 이와 類似的한 傾向을 나타내고 있어 心筋이 水銀에 依하여 變化가 오고 있음을 示唆하고 있다. 肝臟에 있어서 LDH₅가 增加되는 反面 LDH₂는 減少되는데 이는 嫌氣性代謝가 增進되는 反面에 好氣性 代謝가 減少됨을 意味한다. 이와같은 現象은 肝臟炎, 黃疸, 肝硬化症等 肝疾患에 있어 總 LDH活性도가 正常值 範圍內에 있다하더라도 LDH₅만은 上昇된다는 報告¹⁶⁻¹⁹⁾와 一致한다. 肝臟의 組織學的 所見에서는 16日부터 肝細胞 全般에 걸쳐 甚히 惡化되는데 이때 LDH isozyme pattern도 LDH₂가 LDH₅의 2倍以上 上昇되어 肝臟에 優勢한 LDH₅가 逆으로 減少되었다. 이는 계속적인 HgCl₂ 投與로 肝細胞가 甚히 損傷되고 肝機能이 低下된데 起因된것 같다.

Wieme 및 Van Maercke等²⁰⁾은 원숭이에 CCl₄를 投與하여 肝臟炎을 일으킨 結果, 血清中 LDH₅가 顯著히 增加되었으나 數日間 反復投與하였을 때에는 LDH₅가 더 增加되지 않았다고 報告하였다. 本實驗에서도 LDH₅가 增加되었다가 減少되는 것은 CCl₄投與로 肝細胞內에

含有되고 있는 LDH₅가 消耗될뿐만 아니라 또한 損傷된 肝細胞는 酵素合成能力이 抑制된다는 報告²⁰⁾와 符合된다. Johnson等²¹⁾은 發癌性 azo色素를 飼料에 混合시켜 經口投與한 白鼠와 同色素를 腹腔內에 注射한 兩群의 白鼠 肝 LDH zymogram에 있어 前者는 12週만에, 後者는 10日만에 LDH₁과 LDH₂가 새로 出現되었다고 報告하였다. 本 實驗에서도 12日과 14日에 LDH₁과 LDH₃이 새로 出現된 것은 그들의 報告와 類似하였다.

腎臟에 있어서는 腦 및 心臟과 같이 LDH₁과 LDH₂가 增加되는 反面, LDH₄와 LDH₅가 減少되었음은 HgCl₂의 影響으로 腎臟組織이 損傷되어 代謝에도 異狀이 온 것으로 생각된다. Cornish等⁷⁾은 多量의 HgCl₂를 白鼠에 投與하였을 때 急性tubular necrosis와 水腫을 觀察하였고 12時間後 血清中에는 LDH₁과 LDH₂가 다같이 上昇되나 LDH₁은 LDH₂에 比하여 낮은 分布를 보였으나 24時間後에는 LDH₁/LDH₂의 比가 1以上으로 LDH₁이 LDH₂보다 上昇되었다고 하였다. 本 實驗에서도 8日까지 腎臟組織中에는 LDH₂가 LDH₁보다 優勢하였으나 10日以後 LDH₁이 LDH₂보다 增加되고 있어 그들 結果와 類似한 傾向을 나타내고 있다. 이는 8日以後 腎臟組織損傷이 漸次 進行되어 LDH isozyme pattern이 變化된것 같다. 組織學的 所見에서도 8日부터 近位曲尿管의 損傷과 內腔內 滲出物의 增加現象은 이와같은 變化를 뒷받침하여주고 있다. 또한 16日부터 腎臟組織損傷이 더욱 惡化되고 있는데 이때 腦, 心臟, 肝臟 및 筋肉 등에서 LDH isozyme pattern이 急激히 變化되고 있는 것은 興味로운 現象이라 하겠다.

筋肉에 있어서 LDH₅가 8日부터 增加되기 始作하여 14日에는 最高値에 到達되는 反面, 同期間中 LDH₂와 LDH₃이 減少되어 8日以後 筋肉代謝에 變化가 오는 것 같다.

血清에 있어서 LDH₅가 4日에 減少된 反面 LDH₁은 增加되었다. 이는 LDH₅의 半減期가 7時間인데 比해 LDH₁은 48時間이었다는 Boyd의 報告²²⁾를 볼때에 肝臟 및 腎臟 등의 損傷으로 LDH₅와 LDH₁이 다같이 流出되었다 하더라도 LDH₅가 迅速히 不活性化되는데 起因된것 같다. 그러나 6日以後 LDH₅의 活性比가 다시 對照群과 類似하게 變化된은 肝臟損傷이 더욱 惡化되어 보다 많은 LDH₅가 流出되어 나오는데 起因된것 같다. 16日以後 LDH₅의 活性比의 減少等 LDH isozyme의 pattern 變化는 水銀에 依하여 모든 臟器內 LDH isozyme pattern이 急激히 變動되는데 影響을 받고 있는 것으로 思料된다.

總活性度變化——肝臟에 있어서 總活性도가 若干 增加되었는데 肝細胞破壞에 起因된 增加로 보인다. 따라서 血清中 總 LDH活性度の 增加는 肝臟에서 流出된 LDH에 由來된것 같다.

水銀蓄積——時日이 지남에 따라 肝臟과 腎臟에 水銀蓄積이 漸次 增加되었는데 特히 腎臟에 顯著히 蓄積되었음은 Ulfvarson³⁾과 石倉⁴⁾ 등의 報告와 一致한다. 白鼠의 腎臟組織內에서 水銀과 選擇的으로 結合된 Hg-metallothioneine complex는 相當히 安定하고 無毒한 狀態로 徐徐히 排泄된다고 한다²³⁾. 腎臟組織中 多量의 水銀이 蓄積되었음에도 腎臟組織損傷의 程度가 肝臟組織損傷과 類似하였든 것은 腎臟組織中의 水銀이 主로 Hg-metallothioneine complex의

形態로 存在하고 있기 때문이라고 思料된다. Mouse에 $HgCl_2$ 를 注射하였을 때 腎臟組織中 皮質과 副皮質에 選擇적으로 蓄積되었다는 報告²⁴⁾가 있는데, 腎組織中 LDH_1 과 LDH_2 의 增加는 好氣性組織인 皮質과 副皮質內에 多量의 水銀蓄積에 依한 組織損傷의 結果로 보이며, 組織學的 所見도 이를 뒷받침하여 주고 있다.

結 論

白鼠에 $HgCl_2$ 를 계속적으로 腹腔內에 投與하여(1mg/kg/48hrs) 臟器別 lactic dehydrogenase (LDH) isozyme의 pattern, 總 LDH活性度, 水銀蓄積量 및 組織學的變化를 檢討한바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 正常群의 腦, 心臟 및 腎臟에서는 LDH_1 과 LDH_2 가 優勢하였고 肝臟, 筋肉 및 血清에는 LDH_5 가 優勢하게 分布되어 있었다. $HgCl_2$ 投與群에 있어서 腦, 心臟 및 腎臟은 LDH_1 과 LDH_2 가, 肝臟 및 筋肉은 LDH_5 가 增加되었으나 16日後에는 LDH isozyme의 pattern이 特色없이 異狀적으로 變動되었다.

2) 肝臟과 腎臟에 水銀이 蓄積되었으며 特히 腎臟은 甚한 蓄積現象을 나타냈다.

3) 腎臟에 있어서 絲球體를 中心으로 하여 近位曲尿細管과 遠位曲尿細管의 上皮損傷과 內腔에 滲出物이 觀察되었다. 肝臟에 있어서 組織全般에 걸쳐 脂肪의 甚한 浸積으로 因하여 細胞質이 거의 없는것 같이 觀察되었다.

4) 水銀化合物이 白鼠에 미치는 影響을 究명한 結果, 臟器別 LDH isozyme pattern이 非正常的으로 變化됨을 認知하였고 이로서 水銀中毒의 豫測에 利用될 수 있을 것으로 思料된다.

本 研究를 遂行하는데 있어서 始終一貫指導하여 주신 서울大學校藥學大學 沈吉淳教授와 成均館大學校藥學大學 洪思澳教授께 深甚한 謝意를 드립니다.

文 獻

1. 戶木田菊次, 伊藤隆太, 川村弘徳等, 日衛生學雜誌, **19**, 94(1970).
2. Y. Takeda and T. Ukita, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **17**, 181(1970).
3. U. Ulfvarson, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **15**, 517(1969).
4. 石倉俊治, 井上典子, 與那霸政憲, 衛生化學, **17**, 33(1971).
5. 與那霸政憲, 中村俊, 石倉俊治, 衛生化學, **18**, 248(1972).
6. 二塚信, 松下敏父, 日公衛誌, **20**, 299 (1973).
7. H.H. Cornish, M.L. Barth and V.N. Dodson, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **16**, 411 (1970).
8. J.A. Preston, R.O. Briere and J.G. Batsakis, *Am. J. Clin. Path.*, **43**, 256 (1965).
9. E.C. Webb, *Nature*, **203**, 821 (1964).
10. L. Berger and D. Broida, *Sigma Tech., Bull.*, 500-8-60 (1960).
11. P.G. Cabaud and F. Wroblewski, *Am. J. Clin. Path.*, **30**, 234 (1958).

12. W.R. Hatch and W.L. Ott, *Anal. Chem.*, **40**, 2085 (1968).
13. D.O. Nutter, P.T. Nelson and J.M. Evans, *Am. Heart J.*, Sept., 351 (1966).
14. F. Wroblewski, C. Ross and K. Gregory, *New Engl. J. Med.*, **263**, 531 (1960).
15. H.J. Van der Helm and J.A. Zondag, H.AP. Hartog and M.W. Van der Kooi, *Clin. Chim. Acta.*, **7**, 540 (1962).
16. F. Wroblewski, K.F. Gregory, *Am. N.Y. Acad. Sci.*, **94**, 898 (1961).
17. E.J. Wright, L.P. Cawley and L. Eberhardt, *Am. J. Clin. Path.* **45**, 737 (1966).
18. B.A. Elliot and H.J. Wilkinson, *Clin. Sci.*, **24**, 343 (1963).
19. A.L. Latner, *Advan. Clin. Chem.*, **9**, 69 (1967).
20. R.J. Wieme and Y. Van Maercke, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **94**, 898 (1961).
21. H.L. Johnson and R.F. Kampschmidt, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **120**, 557 (1965).
22. J.W. Boyd, *Biochim. Biophys. Acta*, **132**, 221 (1967).
23. J.M. Wianiewska, B. Trojanoska, J. Piotrowski and M. Jakubowki, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **16**, 754 (1970).
24. M. Berlin and S. Ullberg, *Arch. Environ. Health*, **6**, 589 (1963).