

흰쥐의 肝臟 및 腎臟 無機質에 미치는 水銀의 影響

曹 秀 悅 · 朴 淳 禹 · 李 相 日

嶺南大學校 環境大學院 環境科學科
(1983년 12월 26일 접수)

Effect of Mercuric Chloride on the Contents of Mineral Nutrients in the Liver and Kidney of Rats

Soo-Yeul Cho, Sun-Woo Park and Sang-Il Lee

*Dept. of Environmental Science, Graduate School of Environmental Studies,
Yeungnam University*

(Received December 26, 1983)

Abstract

The effect of changes in body weight, some blood components and some inorganic ions in liver and kidney, were studied on male rats receiving ad libitum on 5, 40, and 200 ppm of mercuric chloride solution during 80 days.

The results obtained were summarized as follows;

1. The total body weights were decreased in proportion to increment of mercury concentration. The internal organs weights i. e., liver, kidney, spleen, and heart, were generally increased. Especially, the weight increment of kidney was the highest by intaking of mercuric chloride solution.
2. There were no significant changes in hematocrit values, activities of GOT and GPT in blood of rats receiving mercuric chloride. On the other hand, the plasma levels of cholesterol were significantly increased. The receiving of 200 ppm mercuric chloride solution to rats was resulted in the remarkable reduction of totalprotein levels and A/G ratio in plasma.
3. The markable rise occurred in the accumulation of Hg, in both liver and kidney in proportion to supplying in rats while there was a tendency decreasing of Cu, Zn contents in liver, whereas there was a tendency increasing of Cu, Zn in kidney of rats.

序 論

水銀은 天然에 널리 存在하는 元素로서 常溫에서 揮發性이고 鑛物, 岩石, 土壤, 물, 空氣, 植物 및 動物에 微量成分으로 含有되어 있으며¹⁾, 예로부터 그 독특한 物理化學的 性質 때문에 化粧品과 染料,

醫藥品の 原料로서 使用되었으며 最近 産業의 發展과 더불어 電氣機具, 理化學器機, 化學工業, 農藥 등 에 널리 使用되고 있다²⁾.

이와 같이 水銀의 使用量이 增加함에 따라 工業廢棄物중 에 流出된 水銀化合物이 大氣, 土壤, 水質등 에 蓄積되고 이곳에서 生育하는 植物 및 魚貝類에

methyl 水銀의 形態로 生物濃縮되어 그것을 오랫동안 攝取한 人畜에 있어서 中毒現象을 招來⁹⁻¹¹⁾하기 때문에 惡性 公害物質의 하나로서 社會的인 問題로 擡頭되고 있다.

이러한 水銀이 生體에 미치는 影響에 대한 研究는 各種 水銀化合物의 中毒 및 體內蓄積에 관한 것⁶⁻⁸⁾이 대부분이며 水銀의 經口的 給與에 의한 急性性中毒時 나타나는 것으로 體內物質代謝에 影響을 미치는 研究 報告는 그리 흔하지 않다. 따라서 本實驗에서는 증류수에 HgCl₂를 녹여 Hg의 含量을 달리한 물로 흰쥐에게 80日間 給與하면서 體重의 變化, 各種 臟器重量, 血液의 成分 및 肝臟, 腎臟에 미치는 無機成分의 變化를 調査함으로써 다음과 같은 結果를 얻어 報告하고자 한다.

材料 및 方法

1. 動物實驗

體重이 150~170 g되는 Sprague-Dawley系 雄性 흰쥐를 1週日間 正常飼料로 適應시킨 후 給與 飲料水중의 水銀含量에 따라 4群으로 나누어 總 40마리를 한 飼育箱에 4~5마리씩 넣고 室溫에서 80日間 飼育하되 飼料와 飲料水는 自意대로 攝取하게 하였다. 實驗에 使用한 飼料는 市販固型飼料(組成: 粗蛋白 22.1%, 粗脂肪 3.5% 以上, 粗纖維 5.0% 以下, 粗灰分 8.0% 以下)이었고, 飲料水는 HgCl₂를 증류수에 녹여 水銀의 含量이 各各 0, 5, 40, 200 ppm 이 되도록 한 것이었다.

2. 體重增加量 測定

飼育期間동안 10日마다 한번씩 同一한 條件에서 體重을 測定하였다.

3. 採血 및 各種 臟器의 重量 測定

80日間 飼育한 흰쥐를 解剖하기 16時間 前에 絶食시켜 ether麻醉下에서 腹部 大動脈으로부터 採血한 후, 즉시 肝臟, 腎臟, 心臟, 脾臟, 肺臟을 摘出하여 生理食鹽水로 血液을 씻은 다음 濾過紙로 水分을 적당히 除去한 후 秤量하였다.

한편 採血한 血液은 室溫에서 約 1時間 放置하여 血清이 分離되었을 때 遠心分離(3,000 rpm, 15分間)하여 그 上澄液을 取하였다.

4. 血液의 生化學的 檢査

血液의 Hematocrit値와 血清중의 Glutamic Oxalacetic Transaminase(GOT), Glutamic Pyruvic Transaminase(GPT), cholesterol 및 總蛋白質과 蛋白質分劃의 定量은 常法¹²⁾에 準하여 測定하였다.

5. 肝臟 및 腎臟중의 無機成分 測定

肝臟 및 腎臟 組織 1g을 精秤하여 round flask속 에 넣고 窒酸 3 ml와 황산 15 ml를 加하고 還流冷却器를 附着시켜 140°C에서 12時間 以上 加熱하여 黃色이 사라지고 透明하게 될 때 加熱을 中止시킨다. 이를 冷却한 후 飽和 과망간산칼륨 溶液 5 ml를 添加한 다음, 다시 約 2時間 加熱한다. 脫色이 더 이상 일어나지 않을 때를 分解終末點으로 하여 40% hydroxylamine溶液으로 脫色시킨 溶液을 희석한 후, Hg, Cu, Zn, Ca 및 Mg을 Atomic Absorption Spectrophotometer(Hitachi 170-30 type)로 測定¹⁰⁾하였고 이때의 條件은 Table 1과 같다.

6. 統計處理

處理群에 대한 分散分析을 하였고, 各 處理間의 有意性은 p<0.05에서 Duncan의 多重檢定을 하였다.¹¹⁾

Table 1. Conditions for Hg, Cu, Zn, Ca and Mg determination by atomic absorption spectrophotometry

Element	Wave Length (nm)	Lamp Current (mA)	Air Flow (l/min)	C ₂ H ₂ Flow (l/min)	Slit (nm)
Hg	253.7	6.0	14.0	—	2.0
Cu	324.8	5.0	14.0	3.5	2.0
Zn	213.8	10.0	14.0	3.5	2.0
Ca	422.8	7.5	14.0	3.5	2.0
Mg	285.2	7.5	14.0	3.5	2.0

結果 및 考察

1. 體重增加率의 變化

Fig. 1에서 보는 바와 같이 5 ppm群은 對照群(0 ppm群)에 비하여 별다른 差異가 없었고 40 ppm群은 10日째 부터 다소 減少하기 시작하였으나 큰 變化는 아니었다. 그러나 200 ppm群은 對照群에 비하여 體重의 增加率이 현저하게 低下되었는데, 이는 石倉^{8,10)} 등이 mouse에 水銀化合物을 經口的으로 給與時 給與量이 增加할수록 體重增加率은 현저하게 低下하였다는 報告와 同一한 樣狀을 觀察할 수 있었다.

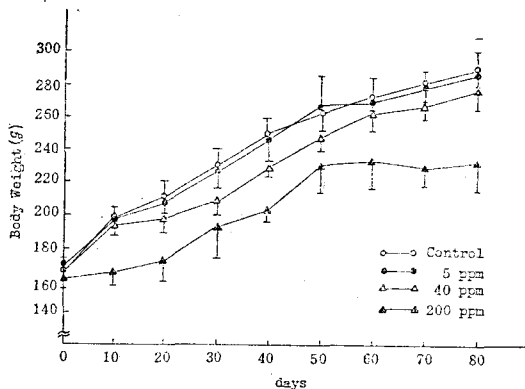


Fig. 1. Changes in body weight during the experimental periods.

한편 水銀 給與含量이 높아질수록 飼料 및 飲料水의 攝取量이 減少하였는데, 특히 200 ppm群은 對照群에 비하여 折半정도 消費하였다.

2. 單位體重當 臟器重量 變化

Table 2에서와 같이 5 ppm, 40 ppm群에서는 腎臟을 除外한 各 臟器의 重量은 有意性이 觀察되지 않았으나, 200 ppm群에서는 大部分의 臟器重量이 有意的인 增加를 나타내었으며 이는 組織의 腫脹에 의한 浮腫 때문에 생각되어진다.

한편 腎臟에 있어서는 水銀의 添加量이 增加할수록 重量도 비례하여 增加함을 觀察할 수 있었는데, 이는 水銀이 주로 腎臟에 많이 蓄積된다⁶⁻⁸⁾는 事實과 一致함을 알 수 있다.

3. 血液중의 Hematocrit值와 血清중의 GOT, GPT 및 Cholesterol含量 變化

Table 3에서와 같이 Hematocrit, GOT, GPT 모두 各群에서 別다른 차이를 觀察할 수 없었다. 이는 水銀의 給與가 體內 調節作用에 의해 別다른 影響을 미치지 않았음을 알 수 있는데 이같은 事實은 다른 研究者들의 結果¹²⁾와 一致하지 않았으나 本實驗의 結果와는 給與 期間差에 기인한 것으로 생각되어진다.

Table 2. Organ weight

Group	Liver	Kidney	Heart	Spleen	Lung
0 ppm	2.68±0.11 ^{a1)}	0.69±0.03 ^d	0.29±0.01 ^g	0.30±0.04 ^o	0.62±0.05 [*]
5 ppm	2.63±0.09 ^a	0.72±0.06 ^{de}	0.28±0.01 ^g	0.30±0.04 ^o	0.52±0.13 [*]
40 ppm	2.60±0.05 ^a	0.79±0.06 ^{de}	0.30±0.02 ^g	0.29±0.03 ^o	0.58±0.05 [*]
200 ppm	3.54±0.81 ^b	0.97±0.14 ^f	0.33±0.03 ^h	0.35±0.05 ^p	0.64±0.10 ^y

* Mean±S. D.

1) Values with different superscripts within a column of the same experiment are significantly different (p<0.05).

Table 3. Contents of hematocrit, GOT, GPT and cholesterol in blood

Group	Hematocrit (%) [*]	GOT (unit/ml) [*]	GPT (unit/ml) [*]	Cholesterol (mg/100ml) [*]
0 ppm	42.75±1.26 ^{a1)}	77.25±6.60 ^b	29.75±4.65 ^c	42.00±4.83 ^d
5 ppm	44.25±1.71 ^a	77.25±12.60 ^b	25.50±3.42 ^c	51.25±5.32 ^d
40 ppm	44.50±1.29 ^a	75.50±11.45 ^b	29.00±2.58 ^c	50.50±4.43 ^d
200 ppm	42.00±2.45 ^a	78.00±18.11 ^b	30.75±2.75 ^c	57.75±12.58 ^e

* Mean±S. D.

1) Values with different superscripts within a column of the same experiment are significantly different (p<0.05).

한편 血中 cholesterol의 濃度는 200 ppm群에서 對照群에 비해 有意한 增加를 나타내었다. 이는 一般의 으로 cholesterol值의 增加는 주로 腎臟 機能 低下에 의한¹³⁾고 하나, 그 理由는 아직 확실히 밝혀져 있지 않지만, 水銀中毒時 腎臟에서 그 蓄積量이 가장 높다는 事實과 連關시켜 볼 때 水銀給與에 의해 腎臟의 機能이 低下된 結果, 血中 cholesterol值가 上昇된 것으로 생각된다.

4. 血清중의 總蛋白質 및 蛋白質分割의 含量 變化

Table 4에서와 같이 總蛋白質, albumin 및 A/G ratio에 있어서 5 ppm과 40 ppm群에서는 對照群에

비해 別다른 차이가 없었으나 200 ppm群에서는 모두 有意的인 減少를 나타내었다. 이는 水銀에 의해 肝臟의 蛋白質合成機能이 低下된 結果로 생각되며, 肝臟機能 惡化時 주로 albumin은 合成이 현저히 減少하고 血中 globulin이 增加한다는 報告¹⁴⁾와 一致함을 알 수 있다.

5. 肝臟 및 腎臟중의 無機成分의 含量 變化

Table 5는 肝臟중의 無機成分 含量을 나타낸 것으로서 水銀의 含量을 增加시킬수록 水銀의 蓄積量은 높아졌으며 Cu와 Zn의 含量은 有意性은 나타나지 않았으나, 200 ppm群에서는 상당히 減少되었다. 이는 水銀이 Cu, Zn과 結合되어 있던 metallothionein

Table 4. Contents of [total protein, albumin, A/G ratio, α_1 -, α_2 -, β -, and γ -globulin in serum (g/100 ml)*

Group	Total Protein	Albumin	A/G Ratio	Globulin			
				α_1 -	α_2 -	β -	γ -
0 ppm	6.40±0.16 ^{a1)}	3.67±0.12 ^c	1.34±0.13 ^e	0.25±0.01 ^g	0.41±0.06 ^k	1.22±0.21 ^o	0.85±0.10 ^x
5 ppm	6.33±0.10 ^a	3.35±0.11 ^c	1.12±0.07 ^e	0.34±0.11 ^g	0.56±0.07 ^k	1.22±0.19 ^o	0.86±0.16 ^x
40 ppm	6.33±0.17 ^a	3.32±0.23 ^c	1.10±0.16 ^e	0.29±0.06 ^g	0.55±0.19 ^k	1.31±0.23 ^o	0.88±0.09 ^x
200 ppm	4.63±1.44 ^b	2.36±0.72 ^d	1.04±0.12 ^f	0.17±0.07 ^h	0.40±0.12 ^k	0.88±0.23 ^p	0.81±0.38 ^x

* Mean±S.D.

1) Values with different superscripts within a column of the same experiment are significantly different (p<0.05).

Table 5. Concentrations of Hg, Cu, Zn, Ca and Mg in liver

Group	Hg	Cu	Zn	Ca	Mg
	(μg/g, wet wt.)*			(mg/g, wet wt.)*	
0 ppm	N.D.	11.98±3.20 ^c	34.25±0.41 ^e	0.22±0.03 ^o	0.11±0.01 ^x
5 ppm	1.32±0.66 ^{a1)}	11.91±3.11 ^c	34.45±0.66 ^e	0.31±0.07 ^o	0.11±0.02 ^{xy}
40 ppm	7.62±0.24 ^{ab}	12.25±0.15 ^c	29.72±1.65 ^e	0.32±0.06 ^o	0.14±0.02 ^y
200 ppm	10.25±3.01 ^b	7.92±1.39 ^c	21.64±0.19 ^e	0.42±0.04 ^p	0.14±0.01 ^y

* Mean±S.D.

1) Values with different superscripts within a column of the same experiment are significantly different (p<0.05).

Table 6. Concentrations of Hg, Cu, Zn, Ca and Mg in kidney

Group	Hg	Cu	Zn	Ca	Mg
	(μg/g, wet wt.)*			(mg/g, wet wt.)*	
0 ppm	N.D.	8.00±1.10 ^c	19.62±3.38 ^e	0.19±0.06 ^h	0.07±0.01 ^x
5 ppm	3.13±1.36 ^{a1)}	12.86±3.21 ^c	30.32±5.51 ^f	0.45±0.11 ⁱ	0.09±0.01 ^x
40 ppm	12.95±7.52 ^a	10.36±5.25 ^c	30.12±3.35 ^f	0.39±0.11 ⁱ	0.09±0.03 ^x
200 ppm	38.86±3.21 ^b	13.74±2.43 ^c	24.61±3.77 ^f	0.28±0.07 ^{hi}	0.10±0.02 ^x

* Mean±S.D.

1) Values with different superscripts within a column of the same experiment are significantly different (p<0.05).

과 결합해서 수銀의 含量은 增加되었으나 Cu, Zn의 含量은 減少된 것¹⁵⁾이 아닌가 생각된다.

한편 Table 6은 腎臟중의 無機成分 含量을 나타낸 것으로서 肝臟에서 보다 腎臟에서 더 많은 量의 水銀이 蓄積됨을 알 수 있으며 또한 肝臟에서와 달리 Cu와 Zn의 含量이 對照群에서 보다 實驗群에서 다소 增加됨을 觀察할 수 있다. 이는 腎臟으로 無機質이 移動함으로써 水銀 뿐만 아니라 Cu, Zn도 腎臟에 많은 量이 蓄積된 것으로 생각되어지며 水銀과 같은 化合物을 投與時 腎臟에서의 metallothionein 含量이 상당히 增加한다는 報告¹⁶⁾가 이를 뒷받침하는 것으로 思料된다.

要 約

最近 産業의 發展과 더불어 煤煙이나 廢水에서 排出되어 나오는 有機金屬化合物類는 더욱 더 增加하여, 직접, 간접으로 우리의 環境을 汚染시켜, 人命, 家畜, 植物 및 水資源에까지 심각한 被害를 끼치고 있다.

그리하여 本實驗에서는 金屬化合物中 特히 水銀의 給與에 의한 急慢性中毒時 나타나는 體內 物質代謝의 影響에 관한 檢討를 目的으로 증류수에 HgCl₂를 溶解시켜 Hg의 含量을 달리한 후 (0, 5, 40, 200 ppm) 흰쥐에게 80日間 給與하였을 때 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 體重增加率은 水銀 含量이 높아질수록 현저히 低下되었으며 또한 各種 臟器의 重量은 200 ppm群에서 全臟器가 有意性 있는 增加를 나타내었다.

2. 血液의 Hematocrit值과 血清중의 GOT, GPT는 別다른 變化를 보이지 않았으나 cholesterol은 200 ppm群에서 有意하게 增加되었고 總蛋白質과 albumin含量 및 A/G ratio도 200 ppm群에서 有意的인 減少를 觀察할 수 있었다.

3. 肝臟 및 腎臟중의 Hg, Ca, Mg의 含量은 水銀 含量이 增加할수록 현저히 높아졌으나 Cu와 Zn은 水銀 含量이 增加할수록 肝臟에서는 다소 減少하였으나 腎臟에서는 오히려 增加하였다.

文 獻

1. Graham, H.D.: *The Safety of Foods*, 2nd ed.,

- AVI Publishing Company, Inc. Westport 353(1980)
2. Oehme, F.W.: *Toxicity of Heavy Metals in the Environment*, 2 parts., Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, 306(1979)
 3. Westöö, G.: *Acta. Chem. Scand.*, **20**, 2131 (1966)
 4. Henderson, C., Anglis, A. and Johnson, W. L.: *Pestic. Monit. J.*, **3** (3), 145(1972)
 5. 熊本大醫學部編: 水俣病—有機水銀中毒에 關한 研究(1966)
 6. Takeda, Y., and Ukita, T.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **17**, 181(1970)
 7. Ulfvarson, U.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **15**, 517(1969)
 8. 與那覇政憲, 中村俊, 石倉俊治: アルコキシエチル水銀化合物의 毒性과 生體內分布, 衛生化學, **18**, 248(1972)
 9. Bauer, J.D.: *Clinical Laboratory Methods*, 9th ed., The C.V. Mosby Co. Saint Louis, 188 (1982)
 10. 石倉俊治, 井上典子, 與那覇政憲: 鹽化 메トキシエチル水銀による 水俣病樣症狀의 發現, 衛生化學 **17**, 33(1971)
 11. Spiegel, M.R.: *Theory and Problem of Statistics*, McGraw-Hill Book Co., New York, 188(1961)
 12. Axelsson, B., and Piscator, M.: *Arch. Environ. Health*, **12**, 360(1960)
 13. Tietz, N.W., Caraway, W.T., Freier, E.F., Kachmar, J.F., Rawnsley, H.M.: *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 2nd ed., W.B. Saunders Co. Philadelphia, 506(1976)
 14. Ryoo, H., and Tarver, H.: *Proc. Exp. Biol. and Med.*, **128**, 760(1968)
 15. Klassen, C.D., Amdur, M.O.: *Toxicology*, 2nd ed., Macmillan Publishing Co., Inc. New York, (1980)
 16. Wianiewska, J.M., Trojanoska, B., Piotrowski, J., and Jakubowski, M.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **16**, 754(1970)