

Selenium에 의한 흰쥐의 장기내 Metallothionein 변화와 Cadmium에 미치는 영향

김정현 · 이재형 · 기노석* · 고대하*

경희대학교 대학원 환경학과
*전북대학교 의과대학 예방의학교실

Cadmium Toxicity Decreased by Selenium Induced Metallothionein in the Organs of Rat.

Kim Jung Hyun · Lee Jae Hyung · Ki No Suk* · Kob Dai Ha*

Dept. of Environmental Science, Graduate School of Kyunghee University.
**Dept. of Preventive Medicine & Public Health, College of Medicine,*
Chonbuk National University

ABSTRACT

The influence of selenium to several toxic effects of cadmium, including lethality has been shown following pretreatment with cadmium, zinc and selenium. Five groups of rats, each consisting of 16 rats, were studied and each group was divided into four subgroups, 4 rats for each subgroup.

After subcutaneous pretreatment during 5 days with saline, $CdCl_2$ (0.5mg/kg), $ZnCl_2$ (13.0mg/kg) and Na_2SeO_3 (1.0mg/kg), rats were given intraperitoneal administration of various dosage of or cadmium of cadmium and selenium.

After giving the challenge dose, cadmium and metallothionein(MT) concentrations were determined in liver and kidney

The concentration of cadmium in liver and kidney increased proportionally to the increase of challenge dosage.

The simultaneous administration of cadmium and selenium significantly more decrease cadmium concentrations in liver and kidney than those of the administration of cadmium only.

However, MT concentrations in liver and kidney were increased by the pretreatment of cadmium, zinc and selenium.

Our results suggest that increasing cadmium concentrations, gradually accumulating in the tissues of liver and kidney as a result of the pretreatment, served to induce the synthesis of MT, thus making them resistant to the challenge from cadmium.

I. 서 론

셀레늄은 최근 중금속의 독성억제와 항암효과가 알려지므로써 관련분야의 비상한 관심을 일으키고 있는 비금속원소로서 일찌기 Schwarz와 Folts¹⁾가 실험동물에서 셀레늄의 필수성을 지적한 이래, Schroeder 등²⁾과 Young³⁾도 인체에서 셀레늄이 필수미량원소로 작용한다는 사실을 밝힌 바 있다.

생체에서의 셀레늄의 기능을 설명할 수 있는 작용기전은 현재까지 논란의 여지가 있으나, 중금속 독성억제와 항암작용은 셀레늄의 항산화작용(antioxidant activity)에 의하며^{4,5)}, 항산화 작용은 glutathione peroxidase의 활성을 통해 발휘된다는 주장^{6,7)}과 셀레늄이 중금속과 직접 결합하여 독성이 적은 화합물을 형성하므로써 가능하다는 견해가 있다.^{8,9)} 이에 Ohta 등¹⁰⁾의 실험은 카드뮴에 의한 독성을 셀레늄이 억제하는 것이 MT의 생성외에도 효소작용을 증가시키는 결과를 보여주며, 양 등¹¹⁾은 수은중독시에는 셀레늄의 독성억제가 MT합성에 의한 보상효과라고 보고하였다.

아연의 경우도 생체의 필수원소로서 뿐만이 아니라 Goering과 Klaassen¹²⁾이 밝힌 바와 같이 카드뮴의 독성을 억제하는 것으로 알려져 있으며, 국내에서도 김 등¹³⁾은 급성 카드뮴 중독시 전처리된 아연이 간장세포의 변성이나 기타 조직학적 손상에 방어능력을 발휘하는 것으로 보고한 바 있다.

MT이 중금속에 대한 독성학적 방어기전에 관여한다는 것에 대해서는 논란의 여지가 있으나, 백서를 아연으로 전처리한 후 고농도의 카드뮴을 투여하면 카드뮴이 세포핵, 미토콘드리아 및 내형질망과 같은 중요 세포소기관 보다는 주로 세포액의 MT와 결합하기 때문에 독성을 감소시킨다는 세포재분배의 이론^{14,15)}, MT이 중금속을 수용성으로 전환시켜 배설시킨다는 보고¹⁶⁾ 및 표적장기에서 조직손상을 일으키는 free radical ion이 MT와 결합하므로써 독성을 감소시킨다는 견해 등의 많은 연구업적들이 MT이 중금속독성에 대한 중요한 방어물질임을 제시하고 있다.

본 연구에서는 카드뮴의 독성발현을 억제하는

기전을 밝히기 위한 기본적인 접근으로써 일정기간동안에 카드뮴, 아연 및 셀레늄을 몇가지 농도로 생쥐에 피하주사한 후, 고농도의 카드뮴 및 셀레늄을 여러 농도로 복강내 투여한 다음 간장과 신장의 카드뮴 축적량 및 MT의 농도 변화와의 상호 관계를 파악하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물은 생후 8~10주된 체중 200g 내외의 Sprague-Dewley계 흰쥐를 수컷만을 택하여 사용하였고 실험동물은 실험시작 2주 전부터 온도와 습도를 적정상태를 유지하고 물과 사료를 자유로이 섭취할 수 있도록 하면서 환경에 적응시켰다.

실험군에 투여한 시약으로 카드뮴은 cadmium chloride($CdCl_2$, Sigma Chemical Co.), 아연은 Zino chloride($ZnCl_2$, Sigm Chemical Co.) 셀레늄은 sodium selenite(Na_2SeO_3 , Fluka AG Swiss)로써 모두 생리식염수에 용해시켜 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험동물군 및 약제투여

대조군(A)와 4개의 실험군(B, C, D, E)으로 구분하였으며, 각 군은 다시 4개의 소군(1, 2, 3, 4)으로 구분하여 1개 소군마다 4마리씩 총 80마리의 쥐를 사용하였다. 실험동물은 5일간의 전처리 과정에서 대조군(A)은 생리식염수 0.2ml/만을, 실험군 B는 $CdCl_2$ 0.5mg/kg을, C는 $ZnCl_2$ 13.0mg/kg을, D 및 E군은 Na_2SeO_3 1.0mg/kg의 용량으로 각각 1일 1회의 피하주사를 통해 투여하였다.

전처리로 부터 48시간이 경과한 후, E군을 제외한 각각의 실험군과 대조군의 제1소군에는 생리식염수만을, 제2, 3, 4소군에는 $CdCl_2$ 을 3.0mg/kg, 6.0mg/kg, 9.0mg/kg 농도로 복강내 주사하였다. E군의 경우는 역시 제1소군에서는 생리식염수만을, 제2, 3, 4소군에는 $CdCl_2$ 과 Na_2SeO_3 을 동시 투여하였는데 그 혼합농도는 Table 1에서 기술한 것과 같이 $CdCl_2$ 3개농도와 최고농도에 준하는 Na_2SeO_3 9.0mg/kg을 각각 대응시켜 복강내로 1회 주사하였다. 카드뮴과 아연 및 셀레늄의 용량

Table 1. The experimental schedule of cadmium toxicity test in liver and kidney of rats by short pretreatment

Time(day)	Control(A)	Group B	Group C	Group D	Group E
1st-5th day*	P/S	Cd 0.5	Zn 13.0	Se 1.0	Se 1.0
7th day**	P/S(A ₁)	P/S(B ₁)	P/S(C ₁)	P/S(D ₁)	P/S(E ₁)
	Cd 3.0(A ₂)	Cd 3.0(B ₂)	Cd 3.0(C ₂)	Cd 3.0(D ₂)	Cd 3.0+Se 9.0(E ₂)
	Cd 6.0(A ₃)	Cd 6.0(B ₃)	Cd 6.0(C ₃)	Cd 6.0(D ₃)	Cd 6.0+Se 9.0(E ₃)
	Cd 9.0(A ₄)	Cd 9.0(B ₄)	Cd 9.0(C ₄)	Cd 9.0(D ₄)	Cd 9.0+Se 9.0(E ₄)

P/S : Physiological saline.

* : Pretreatment by subcutaneous injection for 5 days.

** : Challenge treatment by intraperitoneal injection for a day.

및 투여기간은 본 실험에 앞서 실시한 예비실험의 치사율과 Eaton과 Toal²¹⁾, Goering과 Klaassen²²⁾, Dudley 등²³⁾ 및 김 등¹³⁾의 결과를 참고하여 결정하였다.

2) 장기적출 및 기타

약제의 처리로부터 48시간이 경과한 다음 대조군과 실험군의 전개체를 경부탈구로써 희생시키고, 각 장기조직편을 적출하여 카드뮴과 MT농도 측정에 사용하였다.

한편 MT농도의 측정에 쓰일 RBC hemolysate는 실험과 무관한 흰쥐를 심낭천자하여 채취한 혈액으로 제조하였다.

3) 조직내 카드뮴의 농도

적출한 간장과 신장시료 중 약 1g을 취하여 생리식염수로 세척한 후, 통상의 수기에 의한 질산-황산-과염소산 분해법에 따라 가열·분해시킨다. 유기물 분해를 마친 시료에 증류수 50ml와 BTB 용액 세방울을 점적한 다음에 암모니아수를 이용하여 pH를 적정하였다. 여기에 ammonium sulfate용액(40w/v%) 100ml를 넣고 DDTC-MIBK를 사용하여 chelate화합물을 유출하였다. 다음 단계에서 MIBK를 90℃ 열판위에서 휘산시키고 남은 chelate화합물에 질산-과염소산을 소량 간한 후, 다시 휘산시키고 0.1N HCl를 가하여 최종시료 5.0 ml를 측정용 시료로 사용하였다. 사용한 시약은 유해금속측정용과 원자흡광분석용이며, 측정은 원자흡수분광광도계(IL 551), 가스는 air-acetylene이었다(Fig. 1).

4) 조직내 Metallothionein농도

MT측정은 Onosaka 등²⁴⁾의 방법을 수정한

Eaton과 Toal²¹⁾의 Cd/hemoglobin affinity법을 참고하여 다음과 같이 실시하였다.

적출한 간조직 1g과 신장조직 0.5g을 생리식염수로 세척한 후 4vol.의 서당용액(Sucrose)을 가하면서 homogenizer를 이용하여 균질화하고

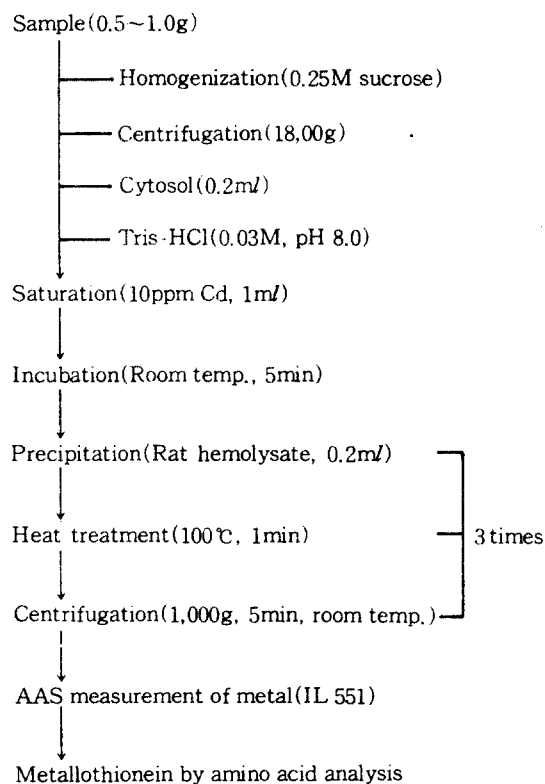


Fig. 1. The procedure of metallothionein determination in liver and kidney of rats.

18,000g, 4℃에서 20분간 원심분리하여 상층으로부터 세포액(cytosol)을 얻는다.

세포액 0.2ml에 0.03M Tris-HCl(pH 8.0)를 첨가하여 2.4ml가 되게 한 다음, 10ppm의 CdCl₂ (standard solution) 1ml로 포화시키고 실온에서 5분간 배양한다. 여기에 RBC hemolysate 0.2ml를 가하여 과량의 카드뮴과 MT 이외의 모든 bioligand를 제거하고, 100℃ water bath에 1분간 정치시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 5분간 원심분리(1,000g)하여 상층액을 취한다. 이상과 같다. hemolysate첨가, 열처리 및 원심분리 과정을 3회 반복하여 얻은 시료를 카드뮴농도 측정기에 이용하고, 최종적인 MT농도 계산은 카드뮴 6g원자가 1M(분자량 6,050)의 MT와 결합하는 것으로 환산하여 조직 g당 mg 농도로 표시하였다 (Fig. 1).

Ⅲ. 결 과

1. 카드뮴 투여에 의한 개체사망수

전처리 기간(5일)중의 모든 실험군에서 개체사망은 없었다. 전처리 후, CdCl₂을 3.0~9.0mg/kg의 농도로 투여하여 24시간 내에 관찰된 개체사망수는 A₃에서 1마리, A₄군에서 2마리, B₄군에서 2마리 및 D₄군에서 1마리로 나타났으나, 기타 실험군에서는 개체사망이 관찰되지 않았다.

2. 조직중 카드뮴과 MT농도

제반처치가 끝난 후, 대조군과 실험군의 조직중 카드뮴 및 MT의 장기별 농도는 다음과 같다.

1) 간장 중 농도

전처치를 제외하고는 카드뮴을 투여받지 않은 대조군(A)과 실험군(B, C, D, E)의 제1소군(A₁~E₁)의 조직내에서 측정된 카드뮴 농도는 각각 1.83μg/g, 16.72μg/g, 1.50μg/g 및 1.69μg/g으로 B₁군이 가장 높게 나타났으며, 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 제2, 3, 4소군의 농도는 대조군, 실험군 공히 제1소군보다 높았다. 특히 카드뮴을 단독으로 전처리한 B군의 각 소군 농도는 생리식염수로 전처리한 A군 및 기타 실험군에 비해 현저하게 높았다(p<0.01). 반면 카드뮴과 셀레늄을 동시에 투여한 E군은 대조군 및 기타 실험군에 비해 상대적으로 낮게 나타났다(Table 2, 3, Fig. 2, 3).

MT의 농도는 각 군의 제1소군에서 각각 0.09mg/g, 1.40mg/g, 0.63mg/g, 0.14mg/g 및 0.15mg/g이었으며, 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 제2, 3, 4소군의 농도가 높게 나타났는데(p<0.05), 역시 카드뮴 단독 전처리군인 B군의 경우 대조군 및 기타 실험군의 3, 4소군에 비해 현저하게 높은 농도를 보였다(p<0.01). 그러나 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 C군은 오히려 감소하는 경향을 보였으며, A군과 D군은 제3소군에서 가장

Table 2. The influence short-term CdCl₂ and ZnCl₂ pretreatment on the concentrations of cadmium and metallothionein(MT) in the rat liver

Group subgroup	Group A				Group B				Group C			
	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
Cd (μg/g)	1.83*	16.86	30.52	32.90	16.72**	41.38**	70.10**	76.22**	1.89	18.57	28.48	37.60
	±0.74	±1.30	±7.76	±3.60	±1.75	±0.73	±13.80	±3.13	±0.52	±0.72	±7.25	±16.05
MT (mg/g)	0.09	0.41	0.89	0.67	1.40	1.64	3.46**	4.17**	0.63*	2.49*	2.07*	1.78
	±0.04	±0.26	±0.38	±0.47	±0.57	±0.76	±0.73	±1.02	±0.29	±1.24	±0.08	±0.59

a : Values represent Mean ± S.D. of four rats per subgroup.

Group A : Pretreated with saline, Group B : Pretreated group(0.5mg/kg as CdCl₂)

Group C : Pretreated group(13.0mg/kg as ZnCl₂)

Subgroup 1 was given no further treatment.

Subgroup 2, 3 and 4 were given challenge doses of 3.0, 6.0 and 9.0mg Cd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

*p<0.05. **p<0.01(for comparing with group A or others).

높은 농도였다(Table 2, 3).

2) 신장 중 농도

카드뮴의 경우, 각 군의 제1소군 농도는 각각 1.31 $\mu\text{g/g}$, 5.98 $\mu\text{g/g}$, 0.75 $\mu\text{g/g}$, 1.33 $\mu\text{g/g}$ 및 1.04 $\mu\text{g/g}$ 이었다(Table 4, 5). 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 각 군의 제1소군에 비하여 제2, 3, 4소군의 신장내 카드뮴 농도가 제4군에서는 오히려 감

소하였으며, C군, D군 및 E군에서는 지속적인 증가를 보였다(Fig. 4, 5). 특히 E군에서는 제3소군까지는 대조군 및 다른 실험군에 비하여 낮았으나 ($p < 0.05$), 제4소군에서 증가한 결과를 나타냈으며, B군은 제1, 2, 3, 4군 공히 다른 소군들에 비하여 높은 농도를 보였다($p < 0.05$).

MT의 경우, 각 군의 제1소군은 각각 0.03mg/

Table 3. The influence of short-term CdCl_2 and Na_2SeO_2 pretreatment on the concentrations of cadmium and metallothionein(MT) in the rat liver

Group	Group A				Group D				Group E			
Subgroup	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄
Cd ($\mu\text{g/g}$)	1.83* ± 0.74	16.86 ± 1.30	30.52 ± 7.76	32.90 ± 3.60	1.50 ± 0.33	16.27* ± 6.07	30.50* ± 8.52	43.05 ± 9.75	1.69 ± 0.24	4.01** ± 0.72	10.13** ± 3.59	32.54 ± 6.24
MT (mg/g)	0.09 ± 0.04	0.41 ± 0.26	0.89 ± 0.38	0.67 ± 0.47	1.40 ± 0.11	1.35* ± 0.81	1.75* ± 0.54	1.29 ± 1.47	0.15 ± 0.12	1.15 ± 1.11	0.82* ± 0.19	1.42 ± 0.24

a : Values represent Mean \pm S.D. of four rats per subgroup.

Group A : Pretreated with saline. Group D : Pretreated group(1.0mg/kg as Na_2SeO_3)

Group E : Simultaneous injection of Cd and Se(9.0mg/kg as Na_2SeO_2) after pretreated group with sodium selenite.

Subgroup 1 was given no further treatment.

Subgroup 2, 3 and 4 were given challenge doses of 3.0, 6.0 and 9.0mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

* $p < 0.05$. ** $p < 0.01$ (for comparing with group 4 or others).

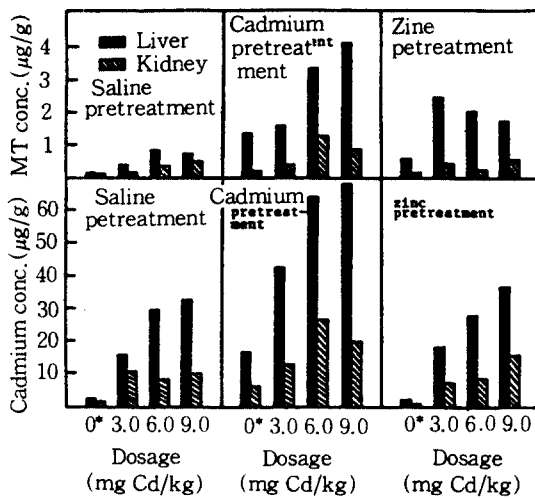


Fig. 2. Concentrations of cadmium and metallothionein(MT) in liver and kidney of rats given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl_2 after short-term subcutaneous pretreatment(0* control).

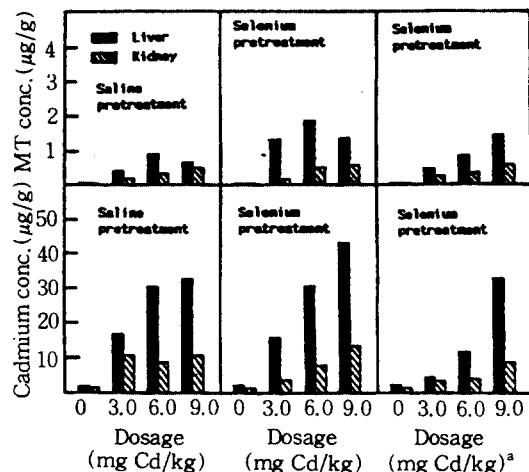


Fig. 3. Concentrations of cadmium and metallothionein(MT) in liver and kidney of rats given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl_2 after short-term subcutaneous pretreatment

g, 0.17mg/g, 0.15mg/g, 0.08mg/g 및 0.06mg/g 이었으며, 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 A군과 D군은 현저한 증가를 보인 반면 C군과 E군은 완만한 증가를 보였고, B군과 B₃에서 최고 농도를 보였으나, B₄에서는 B₃에서 최고 농도를 보였으나, B₄에서는 B₃보다 낮았다(Table 4, 5).

3) 카드뮴과 MT농도와의 관계

카드뮴과 아연 및 셀레늄을 전처치한 간장 및 신장중 카드뮴 농도와 MT농도와의 관계는 Fig. 4, 5에서와 같이 간장과 신장 모두 카드뮴 전처치가 아연 및 셀레늄 전처치에 비해 MT생성유도의 강도(potency) 및 효력(efficacy)이 높다는 것

을 시사하고 있다.

IV. 고 찰

Metallothionein(MT)은 그 분자구조내에 cysteine을 다량 함유하고 있는 저분자단백질로서 중금속에 의해 생성이 유도되는 동시에 중금속과의 친화력이 높은 특성을 가지는데, 열에 강하며 세포소기관에는 존재하나 체액에는 존재하지 않는 특징을 가지고 있다.²⁶⁾

또한 중금속의 종류에 따라 MT를 합성하는 조직이 다른데, 카드뮴은 간장, 신장 및 비장에서,

Table 4. The influence of short-term CdCl₂ and ZnCl₂ pretreatment on the concentrations of cadmium and metallothionein(MT) in the rat kidney

Group	Group A				Group B				Group C			
	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
Cd ($\mu\text{g/g}$)	1.31* ±0.45	10.48 ±4.34	8.06 ±2.38	10.03 ±3.27	5.98* ±1.16	27.19** ±2.48	20.19* ±6.22	20.35* ±3.39	0.75 ±0.28	6.38 ±1.14	8.51 ±2.64	16.11* ±1.87
MT (mg/g)	0.03 ±0.014	0.12 ±0.02	0.34 ±0.22	0.50 ±0.34	1.17 ±0.06	0.37 ±0.17	1.30* ±0.25	0.92 ±0.34	0.15* ±0.07	0.47 ±0.31	0.24* ±0.17	0.54 ±0.41

a ; Values represent Mean ± S.D. of four rats per subgroup.

Group A : Pretreated with saline. Group B : Pretreated group(0.5mg/kg as CdCl₂)

Group C : Pretreated group(13.0mg/kg as ZnCl₂)

Subgroup 1 was given no further treatment.

Subgroup 2, 3 and 4 were given challenge doses of 3.0, 6.0 and 9.0mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

*p<0.05. **p<0.01(for comparing with group A or others).

Table 5. The influence of short-term CdCl₂ and Na₂SeO₂ pretreatment on the concentrations of cadmium and metallothionein(MT) in the rat kidney

Group	Group A				Group D				Group E			
	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄
Cd ($\mu\text{g/g}$)	1.31* ±0.45	10.48 ±4.34	8.06 ±2.38	10.03 ±3.27	1.33 ±0.62	3.36 ±2.01	7.55 ±1.84	13.42 ±3.63	1.04 ±0.21	3.21** ±0.79	3.80* ±1.12	8.25 ±1.30
MT (mg/g)	0.03 ±0.01	0.12 ±0.02	0.34 ±0.22	0.50 ±3.34	0.08 ±0.03	0.21 ±0.04	0.42 ±0.14	0.72 ±0.12	0.06 ±0.03	0.35 ±0.10	0.32 ±0.05	0.53 ±0.17

a ; Values represent Mean ± S.D. of four rats per subgroup.

Group A : Pretreated with saline. Group D : Pretreated group(1.0mg/kg as Na₂SeO₂)

Group E : Simultaneous injection with Cd and Se(9.0mg/kg as Na₂SeO₃) after pretreated group with sodium selenite.

Subgroup 1 was given no further treatment.

Subgroup 2, 3 and 4 were given challenge doses of 3.0, 6.0 and 9.0mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

*p<0.05. **p<0.01(for comparing with group 4 or others).

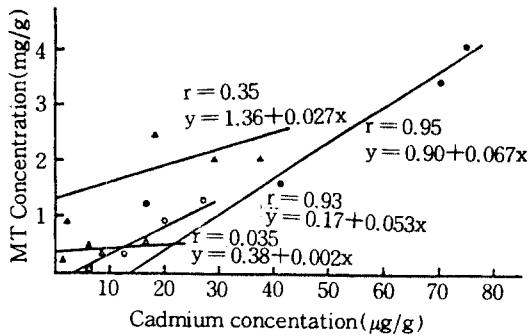


Fig. 4. Relationship between cadmium and metallothionein(MT) in liver and kidney of rats given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl₂ after short-term subcutaneous pretreatment.

- : Cadmium pretreatment liver
- : Cadmium pretreatment kidney
- ▲ : Zinc pretreatment liver
- △ : Zinc pretreatment kidney

구리는 간장과 신장에서, 수은은 신장에서, 아연은 간장에서 주로 MT를 생성하게 된다. 그러나 상당량의 중금속촉매가 이루어지는 뼈에서는 MT가 생성되는 보고는 없는 것으로 알려져 있다.²⁶⁾ 이와 같이 각 부위에서 생성된 MT의 생물학적 기능은 중금속을 저장, 운반 및 대사시킴으로써 중금속독증에 대한 방어효과를 나타내며^{12,22,27,28)} 이러한 방어기능은 유해중금속 폭로시 나타나는 병리학적 현상을 경감시킬 수 있다는 점에서 환경과 산업보건 및 독성학적 측면에서 관심의 대상이 되고 있다.^{29,30)}

MT의 독성학적 방어기전을 밝히기 위하여 MT의 생화학적 특성 및 생물학적 대사에 관한 연구도 활발히 진행되어 왔으며^{26,28)} 조직내 MT양을 측정하려는 여러 방법들이 고안되어 있다.^{21,31-33)} 현재까지 여러 연구결과를 종합해 볼 때 카드뮴을 포함한 여러 중금속이 생체내 MT농도를 증가시키는 유도체이며, 각 조직내 생성된 MT이 중금속 독성을 약화시키는 생체방어기전의 하나인 것으로 사료된다.

한편 중금속의 독성을 변조시키거나 이로 인한 피해를 경감시킬 수 있는 요인으로서 세포독성물질의 대사에 적극적으로 관여하는 것으로 알려진 일부 효소계(enzyme system)중, 특히 glutathio-

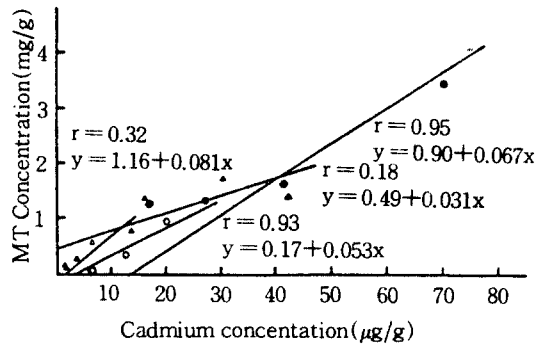


Fig. 5. Relationship between cadmium and metallothionein(MT) in liver and kidney of rats given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl₂ after short-term subcutaneous pretreatment.

- : Cadmium pretreatment Liver
- : Cadmium pretreatment Kidney
- ▲ : Selenium pretreatment Liver
- △ : Selenium pretreatment Kidney

ne peroxidase나 superoxide dismutase(SOD) 등의 활성을 높이는 것으로 알려진 셀레늄(Se)과 아연(Zn) 등의 생체내 미량 원소들이 학계의 관심을 모으고 있다.^{4,6-8)} 그러나 중금속들이 생체로 유입되었을 시, 셀레늄 및 아연들과의 상호작용 및 동시 투여에 의한 metallothionein의 합성변화나 상호동시작용에 관한 연구는 매우 드문 편인데, Ohta 등¹⁰⁾이 실험동물에 카드뮴과 셀레늄을 동시 투여함으로써 대조군에 비해 실험군의 고환 조직을 비롯한 몇몇 장기에서 카드뮴독성에 의해 손상이 예상된 것보다 보존적인 조직소견을 관찰하였는데, 이를 MT생성능과 관련된 결과로 해석하고 있으며, 국내에서도 본 연구자에 의해 수행된 급성 카드뮴중독의 백서에서 동시 투여한 아연의 방어효과 및 MT생성에 미치는 영향이 보고된 바 있다.

본 실험에 사용한 카드뮴, 아연 및 셀레늄의 전처치 농도는 각각 0.5mg/kg, 13.0mg/kg 및 1.0 mg/kg으로 조직의 큰 손상을 야기하지 않으면서 MT를 유도할 수 있는 적정 농도이다. 실제로 Goerion과 Klaassen^{12,15,22)}은 2.0mg/kg의 CdCl₂ ghrdms 12.0mg/kg의 ZnCl₂를 1회 피하주사한 후, 고농도의 카드뮴을 정맥주사한 결과, 생리식염수 전처치 후, 고농도의 카드뮴을 투여하여 나

탄산 간조직의 염증세포침윤, 간소엽의 부종, 핵위축 및 간괴사 등의 간세포손상이 현저히 감소됨을 관찰하였으며, 또한 Sendelbach와 Klaassen¹⁹⁾은 카드뮴의 형태에 따른 MT생성량의 차이를 보고하였는데, 이러한 차이는 주로 간장조직으로부터 CdCl₂에 의해 생성되는 MT의 양에 비하여 주로 신장에 분포하는 CdMT에 의해 생성되는 MT의 양이 현저하게 낮고 신장에서 용해소체에 의해 분해된 카드뮴 이온이 매우 적은 양의 MT을 생성하기 때문에 만성카드뮴 중독시 신장이 표적장기가 되고 급성중독시 간장이 표적장기가 된다는 것이다. 본 실험에서는 CdCl₂로 장기간 전처치한 경우, 신장에 비하여 간장 조직에서 더 높은 MT농도를 보이고 있어 Dudley 등¹⁷⁾의 실험결과와 일치하였다.

MT의 카드뮴독성에 대한 방어효과는 카드뮴 전처치 뿐만 아니라 아연 전처치의 경우에서도 잘 나타나는데, 12.0mg/kg의 아연을 1회 피하주사한 후 4.0mg/kg의 카드뮴을 정맥주사한 Goering과 Klaassen²²⁾의 연구에서는 간장의 MT농도가 생리식염수를 투여한 대조군에 비해 25~45배 높게 나타나고 조직학적으로도 괴사, 부종, 핵위축 등의 간손상을 관찰할 수 없어 아연 전처치가 MT을 생성시키는 유효한 유도체임을 입증하고 있다.

본 실험에서도 아연으로 전처치하면 간장과 신장의 MT농도는 현저히 증가하고 개체의 사망도 일어나지 않아 Goering과 Klaassen²²⁾의 연구와 일치된 방어효과를 보였다.

한편 셀레늄 전처리 후 카드뮴을 투여한 경우, 카드뮴의 조직농도는 대조군과 비슷하였으나, MT의 농도는 현저한 증가를 보인 것은 셀레늄이 단독으로 투여된 실험동물에서 타 중금속과는 무관한 MT의 생성이 관찰된다는 양요환 등¹¹⁾의 보고와 같이 셀레늄에 의해 유도된 MT에 의한 효과라고 추측되나, MT와는 무관하게 셀레늄과 카드뮴의 단순한 화학결합에 의한 비활성화의 가능성도 배제할 수 없다.^{2,34,35)}

특히 셀레늄과 카드뮴을 동시에 복강으로 투여한 경우(E군)도 타 실험군보다 조직축적의 정도는 물론 MT의 농도 역시 매우 낮기 때문에 전처리에 의한 방어효과라기 보다는 저농도·무독성의 경우로 판단되는데, 그 이유로서 다음의 두가지

가능성을 제시할 수 있다. 첫째, 동시 투여한 카드뮴과 셀레늄이 복강내에서 안정된 화합물을 형성하여 복막을 투과하지 않고 저류되었을 가능성, 둘째, 복강으로부터 체내에 진입 후 보다 배설이 용이한 형태로 전환되어 독성 발현전에 체외 배출된 가능성이 있다. 본 실험에서는 당초 이러한 점을 고려치 못하였기 때문에 E군의 실험결과에 별도의 해석이 어려우나, 셀레늄이 수은과의 체내접촉에서 SS- 또는 SH-기를 함유한 조직 단백질을 경우, 비활성 상태로의 전환 가능성을 주장하는 Morimoto 등⁹⁾의 보고와 고대하 등²⁴⁾의 카드뮴에 의한 SCE빈도 증가를 몰(Mol) 농도비 1:2 및 1:4로 셀레늄을 동시투여한 경우 대조군의 수준으로 정상화시킬 수 있다는 결과와 모순되지 않는다.

따라서 이상의 실험결과는 조직내 카드뮴의 축적과 MT생성정도가 체내독성발현과 밀접한 관련이 있으며, 각 실험군간의 특성과 이에 따른 결과를 해석하는데 큰 모순이 없다. 그러나 셀레늄의 카드뮴독성 억제에 대한 기전을 밝히는 데는 본 실험의 기본설계에 추가하여 직접적으로 조직내의 셀레늄 관련효소의 활성을 검정해야 할 것으로 판단되며, 실험동물의 체내에 카드뮴을 투여하는 경로와 다양한 전처리 방법, 특히 복강 투여시 각종 약제의 복막 투과정도나 복강내에서의 상호작용의 결과를 파악할 수 있는 처리후 일정시각마다 반복회수에 의한 실험방법 등의 카드뮴독성과 방어인자에 대해 심층의 정보를 얻는데 기여할 것이라 사료된다.

V. 결 론

카드뮴 독성에 대한 셀레늄의 방어효과를 파악하고자 흰 쥐를 생리식염수, 카드뮴, 아연 및 셀레늄을 5일간 피하 전처치한 후 복강내 1회 카드뮴 단독투여와 카드뮴과 셀레늄을 동시 투여하여 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 간장과 신장내 카드뮴 농도는 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 지속적으로 증가하였으며(p < 0.05), 카드뮴 전처치군이 생리식염수와 다른 중금속 전처치군에 비해 가장 높은 농도를 보였다(p < 0.01).

2. 간장과 신장내 metallothionein 농도는 카드

몸 전처치군에서 metallothionein의 생산능력과 효력이 가장 높게 나타났다. metallothionein형성은 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 감소하였다.

3. 셀레늄과 카드뮴을 동시에 복강으로 투여한 경우에 타 실험군보다 조직축적의 정도는 물론 metallothionein농도 역시 매우 낮게 나타났다.

이상의 결과를 종합하면 셀레늄은 카드뮴과 동시투여했을 때 간장과 신장으로의 카드뮴 축적을 감소시키고 metallothionein이 고농도의 카드뮴독성에 방어효과를 보였으며 간장에서 신장보다 많은 metallothionein생성을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

- 1) Schwarz, K. and Foltz, C. M. : Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. J. Am. Chem. Soc., **79**, 3292, 1957.
- 2) Schroeder, H. A., Frost, D. V., and Balassa, J. J. : Essential trace metals in man : Selenium. J. Chrom. Dis., **23**, 227, 1970.
- 3) Young, V. R. : Selenium : A case for its essentiality in man. N. E. J. M., **304**, 1228, 1981.
- 4) Shamberger, R. J. : Relationship of selenium to cancer I. : Inhibitory effect of selenium on carcinogenesis. J. Natl. Cancer Inst., **44**, 930, 1970.
- 5) Riley, J. F. : Mast cells, cocarcinogenesis, and anticarcinogenesis in the skin of mice. Experientia, **34**, 2083, 1966.
- 6) Ganther, H. E. : Reduction of the selenotrisulfide derivative of glutathione to a persulfide analog by glutathione reductase. Biochemistry, **10**, 4089, 1971.
- 7) Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., and Hoekstra, W. G. : Selenium : Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science, **179**, 588, 1973.
- 8) Sumino, K., Yamamoto, R., and Kitamura, S. : A role of selenium against methylmercury toxicity. Nature, **268**, 73, 1977.
- 9) Morimoto, K., Iijima, S., and Koizumi, A., : Selenite prevents the induction of sister-chromatid exchanges by methylmercury and mercuric chloride in human whole-blood cultures. Mut. Res., **102**, 183, 1982.
- 10) Ohta, H., Imamiya, S., and Yoshikawa, H., : The protective effect of simultaneous selenium administration on acute cadmium toxicity and metallothionein. Jpn. J. Ind. Health, **30**, 451, 1988.
- 11) 양요환, 이효민, 신동천, 정용 : 흰쥐의 무기수은 투여시 Metallothionein형성에 대한 셀레늄의 보상효과, 大韓産業醫學會誌, **1**, 236, 1989.
- 12) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Zinc-induced tolerance to cadmium hepatotoxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol., **74**, 299, 1984.
- 13) 김남송, 이재형, 고대하, 기노석, 황인담 : Cadmium에 의한 흰쥐의 간장 및 신장의 Metallothionein변화와 방어효과, 예방의학학지, **24**, 287, 1991.
- 14) Cherian, M. G. : Induction of renal metallothionein synthesis by parenteral cadmium in rats. Biochem. Pharmacol., **27**, 1163, 1978.
- 15) 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, 1983.
- 16) Parizek, J. and Ostadalova, I. : The protective effect of small amount of selenite in sublimate intoxication. Experientia, **23**, 142, 1967.
- 17) Dudley, R. E., Gammal, L. M. and Klaassen, C. D. : Cadmium-induced hepatic cadmium metallothionein in nephrotoxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol., **77**, 414,

- 1985.
- 18) 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, 1987.
 - 19) Sendelbach L. E., Klaassen C. D. : Kidney synthesizes less metallothionein than liver in response to cadmium chloride and cadmium-metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol*, **92**, 95, 1988.
 - 20) 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, 1989.
 - 21) Eaton, D. L. and Toal, B. F. : Evaluation of the Cd/hemoglobin affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissues. *Toxicol. Appl. pharmacol.*, **66**, 134, 1982.
 - 22) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Tolerance to cadmium-induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 308, 1984.
 - 23) Dudley, F. E., Svovoda, D. J., and Klaassen, C. D. : Acute exposure to cadmium causes severe liver injury in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **65**, 302, 1982.
 - 24) 고대하, 기노석 : Selenium이 mercury, cadmium 및 chromium에 의한 姉妹染色分體交換의 頻度에 미치는 影響, 豫防醫學會誌, **23**, 1, 1990.
 - 25) Onosoka, S., Tanaka, K. Doi, M. and Odahara, K. : A simplified procedure determination of metallothionein in animal tissues. *Eisei Kanaku*, **24**, 128, 1978.
 - 26) Cherian, M. G. and Goyer R. A. : Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Sci.*, **23**, 1 1979.
 - 27) Goyer. R. A. : Toxic effects of metals. In Klaassen, C. D., Amdur, M. O. and Doull, J. (eds.), *Casarett and Doull's Toxicology*. 3rd Ed., Macmillan Publishing Co., New York, 582~596, 1986.
 - 28) Dunn, M. A. : Blalock, T. L. and Cousins, R. J. : Metallothionein. *Proc. Soc. Experim. Bio. Med.*, **185**, 107, 1987.
 - 29) Chung, J., Nartey, N. O. and Cherian M. G. : Metallothionein levels in liver and kidney of Canadian-A potential indicator of environmental exposure to cadmium. *Arch. Environ. Health*, **42**, 319, 1986.
 - 30) Clarke, I. S. and Lui, M. K. : Interaction of metallothionein and carbon tetrachloride on the protective effect of zinc on hepatotoxicity. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **64**, 1104, 1986.
 - 31) Olafson. R. W. and Sim, R. G. : An electrochemical approach to quantitation and characterization of metallothioneins. *Anal. Biochem.*, **100**, 343, 1979.
 - 32) Onosaka, S. and Cherian, M. G. : Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation method. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **63**, 270, 1982.
 - 33) Scheuhammer, A. M. and Cherian, M. G. : Quantification of metallothionein by a silver saturation method. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **82**, 417, 1986.
 - 34) Mason, K. E., Young, J. O. and Brown, J. E. : Effectiveness of selenium and zinc in protecting against cadmium-induced injury of rat testis. *Anat. Rec.*, **148**, 309, 1964.
 - 35) Gumm, S. A., Gould, T. C. and Anderson, W. A. D. : The selective injurious response of testicular and epididymal blood vessels to cadmium and its prevention by zinc. *Am. J. Path.*, **42**, 685, 1963.