

카드뮴 급성폭로에 의한 Metallothionein 생성과 독성작용

중앙대학교 의과대학 예방의학교실
민경준 · 박정덕 · 홍연표 · 장임원

=Abstract=

Induction of Metallothionein and Toxicity in Acute Cadmium Intoxicated Rat

Kyung-Joon Min, Jung-Duck Park, Yeon-Pyo Hong, Im-Won Chang

Department of Preventive Medicine and Community Health, College of Medicine, Chung-Ang University

Thirty five male Sprague-Dawley rats were treated with cadmium chloride solution ranging from 0.2 to 3.2mg CdCl₂/kg by intravenous single injection. At 48 hours after administration of cadmium, total cadmium, MT bound cadmium and histopathologic finding in liver, kidney, lung, heart, testis, metallothionein in liver, kidney and total cadmium in blood were examined.

Tissue cadmium concentration was highest in liver, followed by in kidney, heart, lung and testis. Cadmium bound to metallothionein (MT-Cd) and ratio of MT-Cd to total cadmium were increased in liver and kidney dependently of cadmium exposure dose, but not significantly changed in other organs.

On histopathologic finding, the most susceptible organ was heart in considering cadmium exposed dose, but testis in considering cadmium concentration. Blood cadmium concentration was increased with dose-dependent pattern, and significantly correlated with tissue cadmium concentration, so that we may estimate tissue cadmium concentration by measurement of blood cadmium concentration.

Metallothionein in liver and kidney was increased with dose-dependent pattern, higher in liver than in kidney, and was significantly correlated with tissue cadmium concentration. However, metallothionein induction efficiency of tissue cadmium(μg MT/ μg Cd) was greater in liver than in kidney, and reverse to tissue concentration or exposed dose of cadmium.

Key words: cadmium, MT-bound cadmium, histopathologic finding, metallothionein induction

I. 머리말

카드뮴(Cadmium, Cd)은 아연, 연-아연, 연-구리-아연 광석 등에서 주로 발견되며, 아연광의 제련 및 정제시 0.02~1.40% 비율로 얻어지는 부산물

이다. 카드뮴은 은백색의 금속으로서 연성, 취성, 전연성 및 부식성에 대한 내성이 크고 용점이 320.9°C로 비교적 낮은 특성으로 인해, 각종 전기도금, 발색색소, 화학제제, 여러종류의 합금 및 축전지제조 등에 널리 이용되고 있다(Stokinger, 1981; Page 등, 1986).

카드뮴은 1817년 독일화학자 F. Strohmeyer에 의해

해 처음 발견된 후 1829년 Upper Silesia 지역의 산업장에서 금속카드뮴이 생산되었다. 1900년대 10년 동안의 생산량은 977ton에 불과하였으나 1970년대에는 약 180,000ton으로 급격히 증가되어 전 세계적으로 토양, 대기, 물, 식품 등의 환경오염이 문제시 되고 있는데 비오염지역의 토양 및 대기중에서도 상당량의 카드뮴이 검출되어 환경오염에 대한 주의를 요하고 있는 실정이며, 흡연도 카드뮴폭로의 한 요인이 되고 있다(Nandi 등, 1969; Fassett, 1975). 우리나라에서도 1970년대의 생산량이 675ton으로 보고되어 생산지역에서의 환경오염이 우려시 된다(Page 등, 1986).

근간 각종 카드뮴 취급 산업장에서의 급만성 중독자의 발생 및 오염지역에서의 카드뮴중독 환자의 발생(Tsuchiya, 1969; Smith 등, 1986)이 있어 관심의 대상이 되고 있으며, 앞으로 우리나라에서도 급만성 카드뮴 중독자가 발생될 것으로 우려되어 이에 대한 대책이 강구되어야 할 것이다.

WHO는 1980년 요증 카드뮴 허용한계치를 $10\mu\text{g Cd/g creatinine}$ 으로 권장(WHO study group, 1980) 한 바 있으며, 우리나라 노동부의 근로자 건강진단관리기준으로 요증 카드뮴 $10\mu\text{g/l}$ 미만을 참고치, $10\sim50\mu\text{g/l}$ 를 주의한계, $50\mu\text{g/l}$ 이상을 관리한계로 정하고 있다(노동부, 1992).

최근 일부 학자들에 의해 요증 카드뮴 농도 $10\mu\text{g/g creatinine}$ 이하에서도 신장의 subclinical tubular dysfunction이 동반되는 것으로 보고되어 족, WHO의 기준치(guideline)가 재고되어야 한다고 제기되고 있어(Chia 등, 1989; Roels 등, 1993) 저농도 카드뮴에 의한 손상에 대한 관심이 높아지고 있다. 특히, 저농도 카드뮴중독에 대한 1차 예방과 조기발견 및 효과적인 관리를 위해서는 요증 카드뮴 농도 $10\mu\text{g/g creatinine}$ 이하에서도 카드뮴독성에 대한 민감하고 특이성이 높은 검사방법 및 효과적인 치료약제의 개발이 필연적으로 요구되어, 최근 많은 학자들에 의해 연구·발표되어지고 있다(Chia 등, 1989; Shimada 등, 1991). 국내에서도 급만성 카드뮴중독에 대한 관심이 모아져 비교적 많은 연구가 이루어지고 있으나(엄형택 등, 1986; 정규철 등, 1988; 김남송 등, 1991), 아직 저농도의 카드뮴독성에 대한 연구는 미미하여, 앞으

로 이 분야에 대한 연구를 위해 기본자료의 마련이 요구된다.

그리하여 본 연구에서는 치료약제의 효과판정 및 새로운 약제의 개발과 민감하고 특이성이 높은 진단법의 개발에 앞서, 우선 기본적 연구로서 랫트의 정맥을 통해 카드뮴을 투여한 후 48시간에서 즉, 급성 카드뮴중독시 폭로량에 따른 체내 카드뮴 분포양상 및 양-반응관계를 조직병리학적 소견과 함께 규명함과 동시에 혈중 카드뮴농도와 각 장기에 축적된 카드뮴양과의 관계를 분석하고, 특히 카드뮴의 표적장기로 알려진 간장과 신장에서 세포내 방어기전의 일환으로 카드뮴을 sequestration 시킴으로서 독성작용을 완화시키는 것으로 알려진 metallothionein(MT, Goering과 Klaassen, 1984)을 정량하여 조직내 카드뮴과의 양-반응관계를 규명하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물

약 9~11주령의 체중 180~200g 범위의 Sprague-Dawley계 수컷 랫트를 본 실험실에서 약 10일 동안 랫트용 고형사료와 물로 사육하여 의견상 특별한 이상이 없음을 확인 후 실험동물로 사용하였다.

2. 실험동물 처치

LD_{50} (50% lethal dose: $3.3\text{mg CdCl}_2/\text{kg}$, 김인봉 등, 1992)에 근접한 $3.2\text{mg CdCl}_2/\text{kg}$ 를 최고농도로, 그리고 이의 $3/4(2.4\text{mg CdCl}_2/\text{kg})$, $2/4(1.6\text{mg CdCl}_2/\text{kg})$, $1/4(0.8\text{mg CdCl}_2/\text{kg})$, $1/8(0.4\text{mg CdCl}_2/\text{kg})$, $1/16(0.2\text{mg CdCl}_2/\text{kg})$ 에 해당하는 염화카드뮴(CdCl_2 , Sigma) 용액을 각 군별로 5마리씩 꼬리 정맥을 통해 1회 주사하였고, 대조군 5마리는 주사용 중류수를 동일한 방법으로 주사하였다. 이때 주사한 염화카드뮴용액은 염화카드뮴 1g을 주사용 중류수에 녹여 100ml로 맞추어 1% 염화카드뮴용액을 만든 후 회석하여 0.02~0.32% 염화카드뮴용액으로 만들어 주사시 용량을 약 0.2ml가 되게 조절하였다. 주사후 48시간 이내에 사망한 실험동물을 관찰되지 않았다.

대조군과 실험군은 주사후 48시간에서 에테르 마취하에 즉시 개복한 다음 복부대동맥에서 약 3 ml의 혈액을 채취하여 냉동 보관하였고 이어 간장, 신장, 심장, 폐 및 고환조직을 적출하였다. 적출한 장기의 일부를 조직표본을 만들기 위해 10% formalin 용액에 고정하였으며 이때 취한 장기별 부위는 간장조직은 우하엽, 신장조직은 좌신 중간부위, 심장조직은 좌심실 apex부위, 폐조직은 좌중엽, 그리고 좌측 고환이었다. 나머지 조직은 조직내 카드뮴 농도 및 MT량을 정량하기 위해 -20°C에서 일시 냉동 보관하였다.

3. 카드뮴 분석방법

(1) 시료 전처리

(가) 총 카드뮴량 측정용 시료: 혈액 및 조직내 총 카드뮴량을 정량하기 위해 혈액은 Perry 등(1975)의 방법으로, 간장, 신장, 심장, 폐 및 고환 조직은 Parker 등(1967)의 방법을 다소 수정하여 전처리하였다.

즉, 채취한 혈액 0.5ml에 농질산(유해금속 측정 용, Junsei Chem. Co.) 1ml를 첨가하고, 저온에서 서서히 가열하여 시료가 끓기 직전의 온도에서 2~3 시간 동안 소화시켜 가온 증발시킨 다음, 0.1% 질산용액으로 회석하여 사용하였다. 조직은 적출한 장기에 따라 0.5~2.0g의 시료를 정량한 후, 농질산을 2~5ml 첨가하여 저온에서 가열하되 시료의 색깔이 맑아질 때 까지 농질산을 조금씩 첨가하면서 계속 가열 소화시켰다. 소화된 시료를 0.1% 질산으로 회석하여 사용하였다.

(나) MT-결합형 카드뮴 측정용 시료: MT 정량을 위한 시료처치과정(후술)중 Ag^{++} 포화과정만을 생략해서 얻은 최종 상층액을 시료로 사용(Goyer 등, 1989)하였으며, 이후의 시료의 전처리는 총 카드뮴량 측정용 시료의 전처리와 동일한 방법으로 하였다.

(2) 카드뮴 정량

회석시료에 함유된 카드뮴량은 원자흡광분광도계(Atomic Absorption Spectrophotometer, Baird Co., Model A5100)를 사용하여 double beam flameless방법으로 정량하였다. 이때 원자흡광분광

광도계의 측정조건은 파장-228.8nm, Cd lamp current-2.5mA, D_2 lamp current-18mA, slit width-0.7nm로 하였고 carbon rod에 주입한 25 μl 의 시료를 3.5V에서 30초 동안 증발, 4.5V에서 25초 동안 건조, 5.1V에서 20초 동안 회화, 그리고 6.2V에서 1.5초 동안의 원자화한 4단계 과정을 거쳐서 측정하였다. 정화가스로는 argon(2.0 l/min)을 사용하였다.

카드뮴표준용액은 1.000ppm 원자흡광분석용원액(Hayashi Pure Chem. Indust. Ltd.)을 회석하여 사용하였다. 이때, 혈중 총카드뮴과 MT-결합형 카드뮴농도는 $\mu\text{g/g}$ wet weight로 환산하여 표시하였다.

4. 간, 신조직의 MT 정량

조직내 MT량은 Scheuhammer와 Cherian(1986)의 방법에 의해 정량하였다. 즉, 각 장기에 따라 시료 0.5~1.0g을 정량한 후 4배 용량의 0.25M sucrose(Sigma)을 첨가하여 polytron 조직분쇄기(Janke & Kunkel, Ultra-Turrax T-25)로 20초씩 3회 균질화한 다음 4°C 20,000 × g에서 20분간 냉동원심분리(CENTRIKON T-124, Kontron Ins., Italy)하여 상층액을 취하였다. 상층액 200 μl 에 0.5M glycine, pH 8.5 완충액을 첨가하여 0.8ml가 되게 맞춘 다음, 20ppm Ag^{++} 의 AgNO_3 (Sigma)액 0.5ml를 첨가하여 잘 섞은 후 실온에서 5 분간 보온정치하여 Ag^{++} 이온이 포화되게 하였다. 이어 hemolysate/heat/centrifugation 과정(hem-heat treatment) 즉, 랫트 적혈구 용혈액 0.2ml를 첨가하여 잘 섞은 후 100°C 수욕상에서 1.5분간 열처리 후, 상온 10,000 × g에서 1분간 원심분리(to eliminate Cd bound to non-heat-stable protein)하여 상층액을 얻는 과정을 3회 반복한 후 얻은 상층액을 다시 10,000 × g에서 5분간 원심분리하여 얻은 최종 상층액에 함유된 Ag의 양을 I.C.P. (Inductively Coupled Plasma) Emission Spectrometry(Jobin Yvon, Model JY24, France)을 이용하여 분석하였다. 이때 glycine 완충액을 사용하여 공시험을 병행하였다.

시료에 함유된 MT의 양은 Ag^{++} 포화상태시 mol MT당 Ag 17g 원자와 결합되는 것을 이용해서

환산하여 조직 g당 μg 으로 나타내었다.

-I.C.P. Emission Spectrometry 분석조건: Ag 정량시 기기조건은 emission wavelength-328.068nm, power-1.0kw, sample uptake rate-1.2ml/min 였고, argon 가스의 유속조건은 sheath gas-0.3 l/min, cooling gas-18.0 l/min, carrier gas-0.3 l/min였다. 이때 사용된 Ag 표준용액은 1,000ppm의 원자흡광분석용원액(Hayashi Pure Chem. Indust. Ltd.)을 회석하여 만들었다.

-랏트 적혈구용혈액 추출: 랫트의 적혈구용혈액의 추출은 Onosaka와 Cherian(1982)의 방법으로 추출하였다. 즉, 정상 랫트를 에테르 마취하여 개복한 다음 즉시 복부 대동맥으로 부터 헤파린 처리된 주사기를 사용하여 채혈한 혈액 10ml에 1.15% KCl 20ml를 첨가하여 잘 섞은 후 10°C 3,000 × g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 제거시켰다. 침전물에 다시 1.15% KCl 20ml를 첨가하여 부유시킨 후 10°C 3,000 × g에서 5분간 원심분리 과정을 2회 반복하여 얻은 침전물(washed RBC)에 30mM tris-HCl 완충액, pH 8.0 20ml를 첨가하여 재부유시킨 후 상온에서 10 분간 방치한 다음, 20°C 9,000 × g에서 10 분간 원심분리후 상층액을 취하여 냉동보관하였다가 사용하였다.

5. 조직표본 제작

적출한 간장, 신장, 심장, 폐 및 고환조직의 일부를 10% 중성 formalin 용액에 24시간 동안 침적 고정한 다음, 통상적인 조직처리과정을 거쳐 paraffin에 포매하였다. 이것을 5μm 두께로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin으로 염색하였다. 이들 조직표본중에서 비교적 염색이 잘된 것을 골라 광학현미경으로 관찰하였다.

III. 연구결과

1. 조직내 카드뮴농도

(1) 총 카드뮴농도

랏트의 정맥내로 0.2~3.2mg/kg의 염화카드뮴을 투여한 후 48시간에서의 카드뮴의 조직별 분포양상

은 그림 1과 같다. 즉, 모든 염화카드뮴 투여량별 실험군에서 간장내 카드뮴농도가 가장 높았고 신장, 심장, 폐, 고환 순으로 분포하였다. 이때 각 장기별 총 카드뮴량은 투여량에 따라 거의 비례적으로 증가하여 폭로량과 양-반응 관계가 성립되었다(Fig. 2, r = 0.9807 for liver; r = 0.9693 for kidney; r = 0.9711 for heart; r = 0.9561 for lung; r = 0.9102 for testis).

(2) MT-결합형 카드뮴농도

조직내 MT-결합형 카드뮴량(MT-Cd)은 간장과 신장조직에서는 카드뮴투여량에 따라 증가하였고 (Fig. 2-A,B), 조직내 총 카드뮴량에 대한 MT-Cd 량의 비 역시 간장과 신장에서 모두 투여량이 많을 수록 증가하는 경향을 나타냈으며, 그러한 경향은 신장보다 간장에서 현저하게 나타났다(Fig. 2-A,B). 반면, 심장에서는 카드뮴투여량이 증가함에 따라 MT-Cd량이 다소 증가하였으나 조직내 총 카드뮴량에 대한 MT-Cd의 비는 거의 차이가 없었고(Fig. 2-C), 폐와 고환에서는 카드뮴 투여량에 따른 MT-Cd량의 변화가 거의 없어 MT-Cd 비는 카드뮴투여량에 따라 오히려 감소하였다(Fig. 2-D, E).

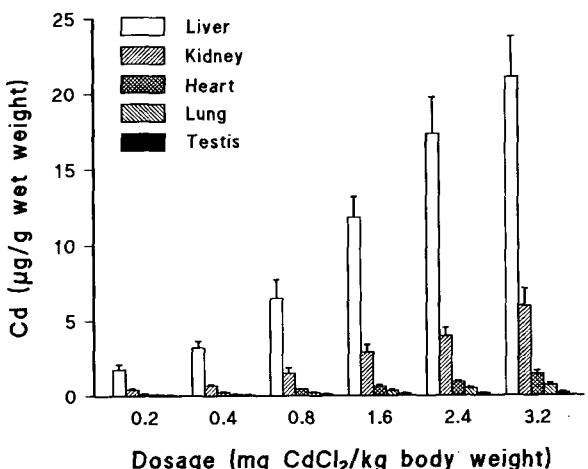


Fig 1. Mean cadmium levels in organs of rats injected with cadmium chloride solution at different doses. Vertical bar indicates standard deviation.

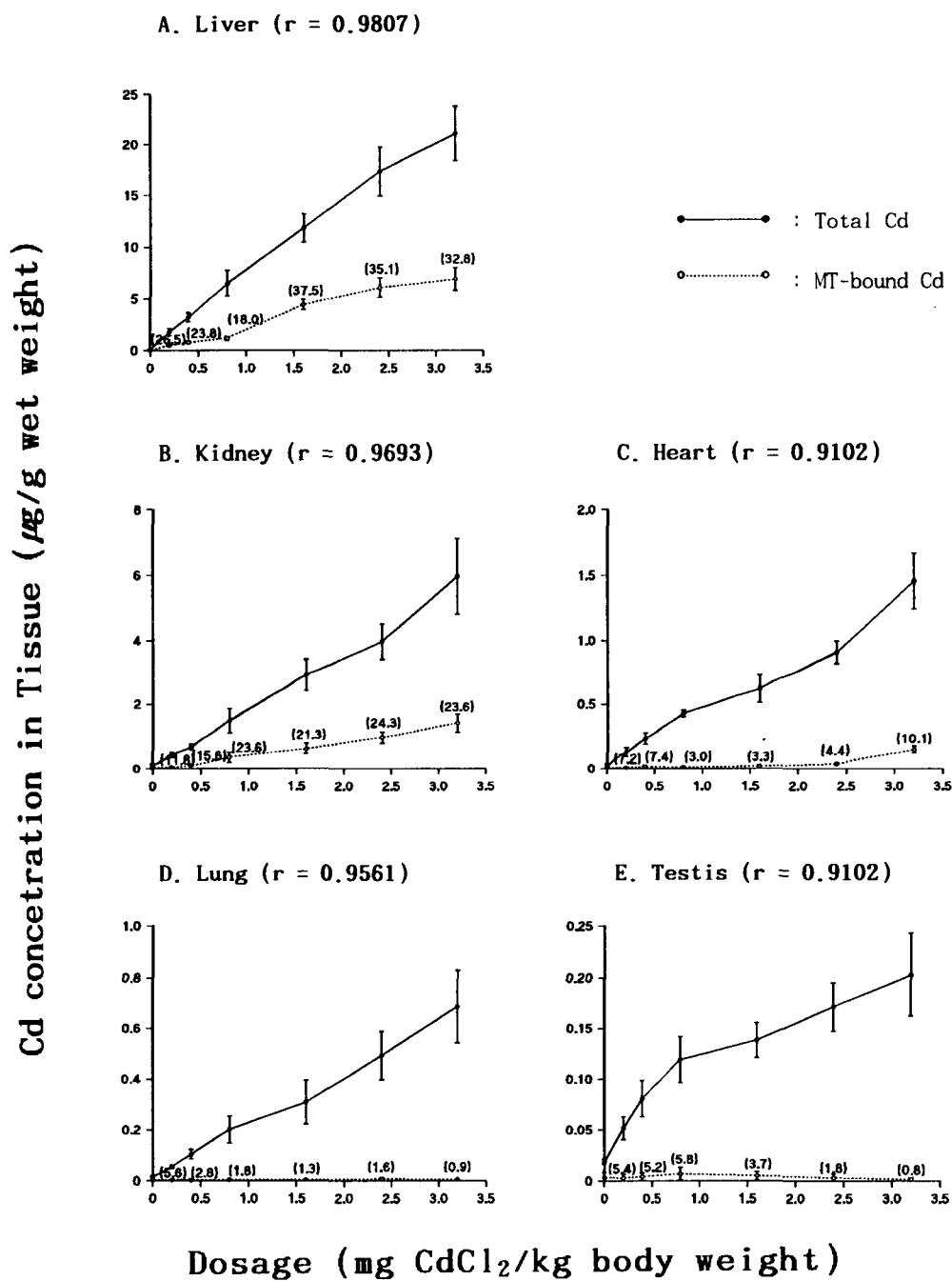


Fig 2. Does-dependence of total and MT-bound cadmium in liver, kidney, heart, lung and testis. Number in parenthesis indicates mean relative ratio of MT-bound Cd to total Cd. Vertical bar indicates standard deviation.

2. 혈중 카드뮴농도

0.2~3.2mg/kg 염화카드뮴을 정맥주사후 48시간에서의 혈중 카드뮴농도는 그림 3과 같이 투여량이 증가함에 따라 거의 직선적으로 증가하여, 투여량에 따라 혈중 카드뮴 농도를 추정할 수 있는 Cd in Blood ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) = $4.4604 \text{ Dose}(\text{mg}/\text{kg}) + 0.5910(r = 0.9768, F = 685.5, p < 0.01)$ 의 직선회귀방정식이 성립되었다.

3. 혈액과 조직내 카드뮴 농도와의 관계

카드뮴 폭로시 체내 각 조직의 카드뮴농도는 혈중 카드뮴농도와 매우 유의한 상관이 있어, 카드뮴투여 후 48시간에서의 혈액과 각 조직에 축적된 카드뮴 함량간에는 직선회귀관계가 성립되었다(Fig. 4 A-E). 즉, 정맥으로 투여된 카드뮴의 경우 폭로후 48시간에서의 간장, 신장, 심장, 폐 및 고환조직내 카드뮴 농도($\mu\text{g}/\text{g wet weight}$)는 각각 $\text{CdL} = 1.4309 \text{ CdB} + 0.1267(r = 0.9597, F = 385.3, p < 0.01)$, $\text{CdK} = 0.3847 \text{ CdB} - 0.1185(r = 0.9553, F = 344.8, p < 0.01)$, $\text{CdH} = 0.0885 \text{ CdB} + 0.0038(r = 0.9576, F = 364.7, p < 0.01)$, $\text{CdLu} = 0.0439 \text{ CdB} - 0.0005(r = 0.9428, F = 264.1, p < 0.01)$, $\text{CdT} = 0.0109 \text{ CdB} + 0.0457(r = 0.8726, F = 105.3, p < 0.01)$ 과 같이 혈중 카드뮴농도로서 각 장기에 축적되는 카드뮴량을 추정할 수 있는 직선회귀관계가 성립되었다.

4. 간장과 신장에서의 MT량

염화카드뮴 0.2~3.2mg/kg을 랫트의 정맥내로 주사후 48시간에서 카드뮴투여량에 따른 간장과 신장에서의 MT량은 그림 5와 같다. 즉, 간장에서는 카드뮴투여량 2.4mg/kg 까지는 투여량이 증가함에 따라 조직내 MT량도 증가하여 2.4mg/kg군에서는 $299.9 \pm 71.9 \mu\text{g}/\text{g wet weight}$ 로서 대조군($17.2 \pm 5.2 \mu\text{g}/\text{g wet weight}$)에 비해 약 17.4배 까지 증가하였으나, 3.2mg/kg군에서는 $268.2 \pm 43.4 \mu\text{g}/\text{g wet weight}$ 로 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 신장조직의 MT량은 카드뮴투여량 3.2mg/kg

투여군까지 계속 증가하였으나 대조군 $11.9 \pm 3.6 \mu\text{g}/\text{g wet weight}$ 에 비해 약 4.3 배인 $50.8 \pm 8.6 \mu\text{g}/\text{g wet weight}$ 로서 간장보다 낮게 나타났다. 한편 간장과 신장에서의 MT량은 조직내 카드뮴량이 높을수록 증가하여, 조직내 카드뮴축적량과 MT량 간에 간장에서는 $\text{MT-L}(\mu\text{g}/\text{g wet weight}) = 13.7810 \text{ CdL}(\mu\text{g}/\text{g wet weight}) + 22.2939 (r = 0.9237, F = 191.9, p < 0.01)$, 신장에서는 $\text{MT-K}(\mu\text{g}/\text{g wet weight}) = 6.0608 \text{ CdK}(\mu\text{g}/\text{g wet weight}) + 12.0830(r = 0.9323, F = 219.3, p < 0.01)$ 의 직선회귀관계가 성립되었다(Fig. 6).

그러나 간장과 신장조직내 카드뮴량에 대한 MT량의 비 ($\mu\text{g MT}/\mu\text{g Cd}$)는 카드뮴량이 적을수록 높아지는 경향을 나타내었다(Fig. 5). 즉, 염화카드뮴 0.2mg/kg 투여군에서의 간장조직내 카드뮴량에 대한 MT량의 비(ratio)는 22.8로서 3.2mg/kg 투여군의 12.7에 비해 약 1.8배 였고, 신장조직에서는 0.2mg/kg 투여군에서의 조직내 카드뮴농도에 대한 MT량의 비는 39.2로서 3.2mg/kg 투여군의 8.5보다 약 4.3배 높았다.

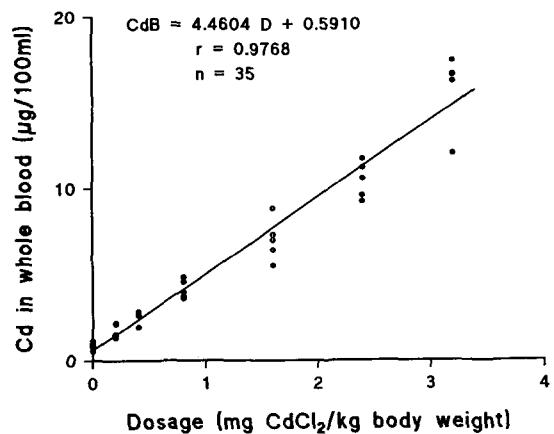


Fig 3. Cadmium concentrations in whole blood of rats with cadmium chloride solution at different doses. Solid line indicates the estimated regression of blood Cd concentration on dosage of administered cadmium chloride.

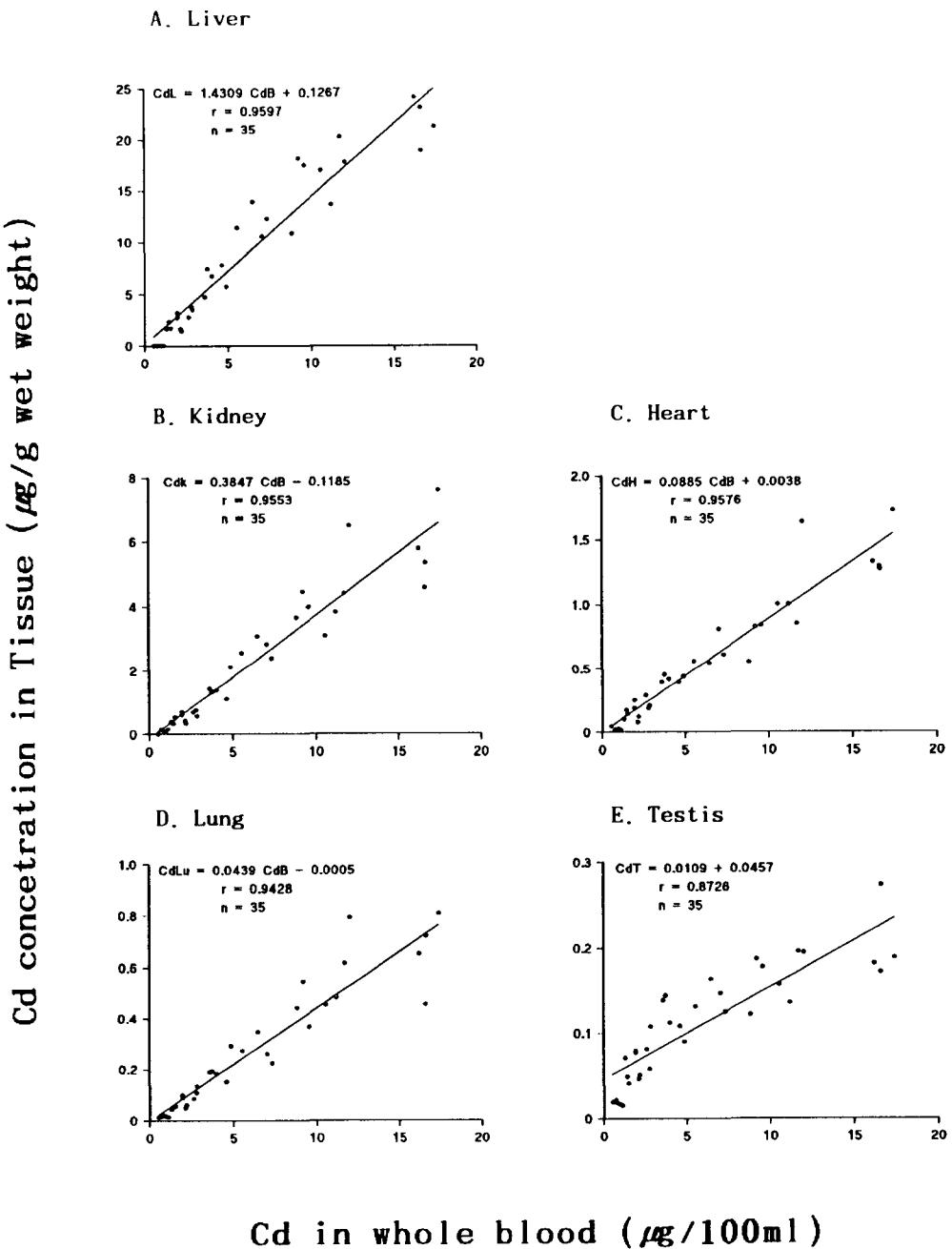


Fig 4. Regression of hepatic, renal, cardiac, pulmonary and testicular Cd concentration on Cd in whole blood.
 Solid line indicates the estimated regression in each organ.

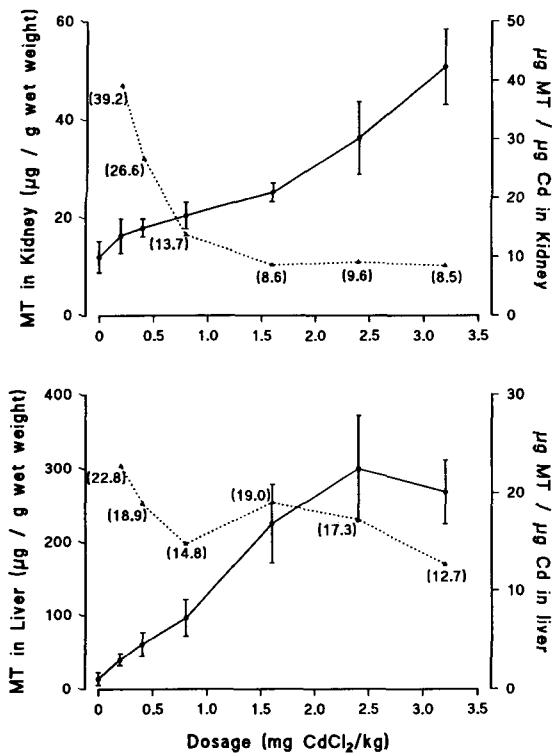


Fig. 5. Dose-dependence of hepatic and renal MT. Solid line indicates concentration of tissue MT, and vertical bar represents standard deviation. Dotted line indicates relative ratio of tissue MT concentration to tissue Cd concentration, and number in parenthesis represents mean relative ratio ($\mu\text{g MT}/\mu\text{g Cd}$).

5. 조직병리학적 소견

염화카드뮴 투여군별로 주사 후 48시간에서의 간장, 신장, 심장, 폐 및 고환조직에서 나타난 광학 현미경적 소견은 표 1 및 그림 7~11과 같다.

즉, 신장조직은 LD₅₀에 근접한 양인 3.2mg CdCl₂/kg을 투여한 경우에서도 대조군에 비하여 형태학적으로 특이한 소견이 관찰되지 않았다(Fig. 8). 간장조직은 1.6mg CdCl₂/kg 투여군까지는 대조군에 비해 특이한 소견이 없었으나, 2.4mg CdCl₂/kg 투여군에서 변화가 나타나 대조군에 비해 염증세포 침윤 및 간세포내 과립감소 등이 관찰되었

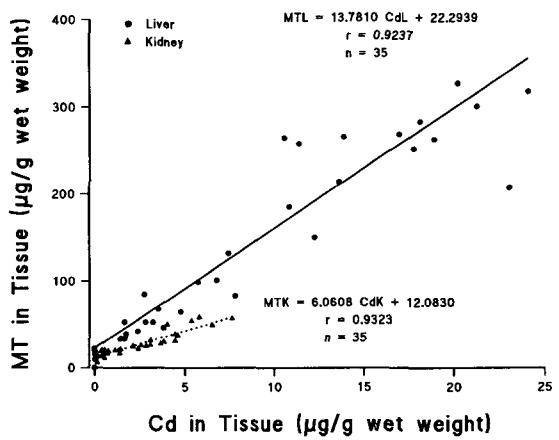


Fig. 6. Regression of hepatic and renal MT concentrations on their tissue Cd concentrations. Solid line indicates the estimated regression of hepatic MT and dotted line indicates the estimated regression of renal MT.

다(Fig. 7). 폐조직은 0.8mg CdCl₂/kg 투여군까지는 대조군에 비해 특이한 소견은 없었으나, 1.6mg CdCl₂/kg 투여군에서 폐포증격 비후와 염증세포의 침윤이 다소 관찰되었으며, 카드뮴투여량이 증가함에 따라 폐포증격 비후가 더욱 심해지고, 폐포내 출혈도 관찰되었다(Fig. 10). 고환조직은 0.8mg CdCl₂/kg 투여군까지는 형태학적으로 특이한 소견은 없었으나, 1.6mg CdCl₂/kg 이상 투여군에서는 정세포의 파괴 및 간질조직의 섬유화가 투여량이 증가함에 따라 더욱 광범위하게 나타났다(Fig. 11). 심장조직은 염화카드뮴 0.8mg CdCl₂/kg 투여군에서부터 대조군에 비해 심근원섬유의 파수축, 심근 세사의 소실 등 이상소견이 관찰되었다. 심장조직의 병변 정도와 범위는 카드뮴투여량이 증가함에 따라 더욱 광범위하게 나타났다(Fig. 9).

이상의 결과를 종합해 볼 때, 카드뮴투여후 48시간에서 투여량에 따라 관찰된 형태학적 조직변화는 심장조직에서 가장 먼저 나타났으며, 고환, 폐, 간장, 신장 순이었다. 반면 조직내 카드뮴농도에 따른 형태학적 변화는 고환의 경우 조직내 카드뮴농도 $0.138 \pm 0.017 \mu\text{g/g}$ wet weight에서 이상소견이 관찰되어 가장 민감하였다(표 1).

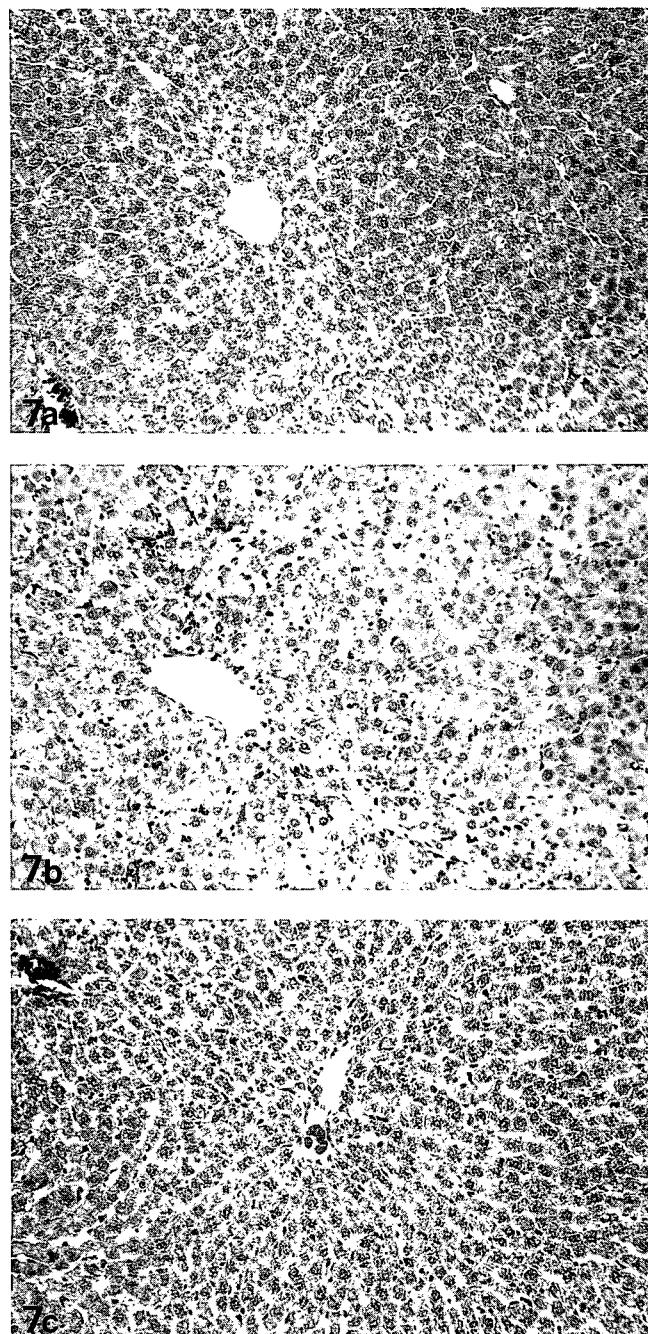


Fig. 7. Livers of the control rats (a) and the CdCl_2 -treated rats (b; 2.4mg/kg, c; 3.2mg/kg) H-E, $\times 100$. a; Hepatic cords are radiated from the central vein. b; Increased cellularity in the sinusoids is relatively evident than in the control. c; Hepatocytes show reduced granularity and apparent increased cellularity in the sinusoids.

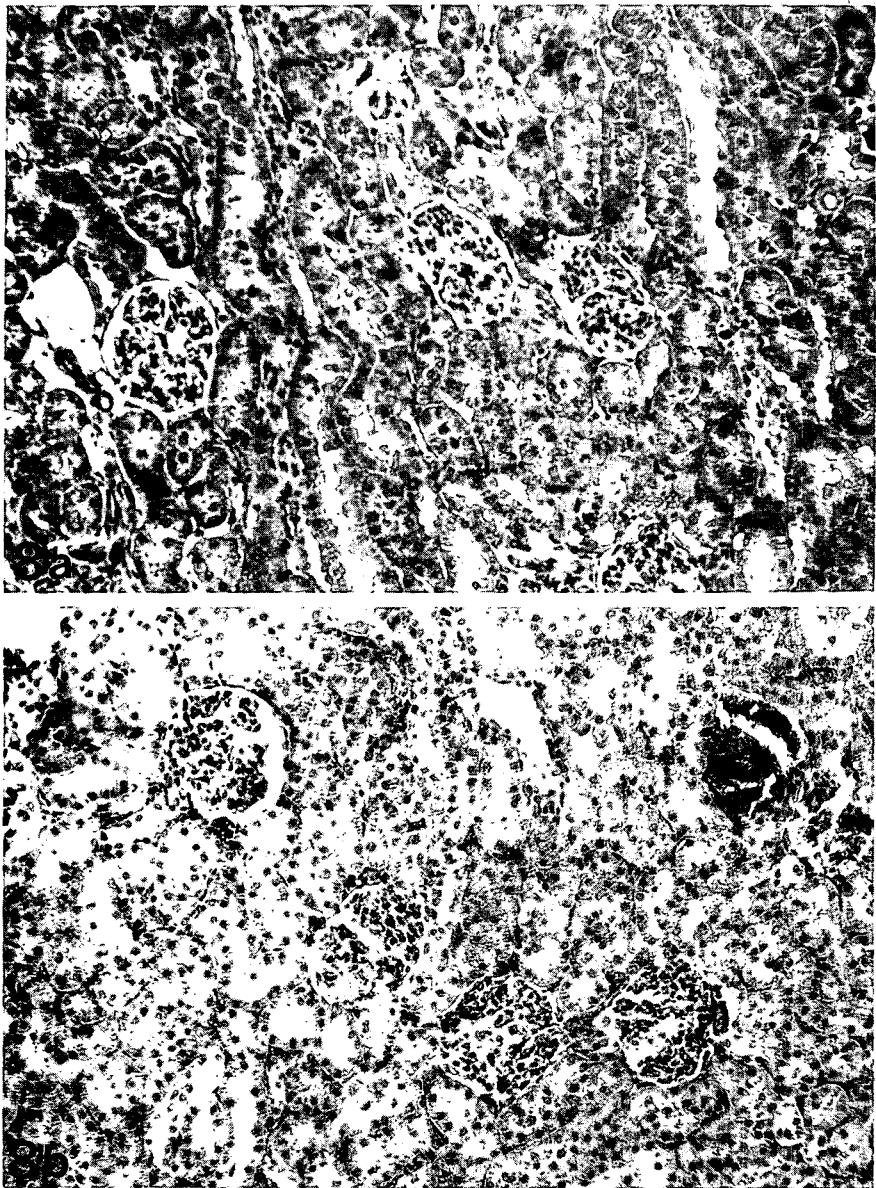


Fig.8. Kidneys of the control rats (a) and the CdCl₂-treated rats(b; 3.2mg/kg) H-E, $\times 100$. a; Glomeruli and renal tubules are intact. b; Glomeruli and renal tubules are relatively intact.

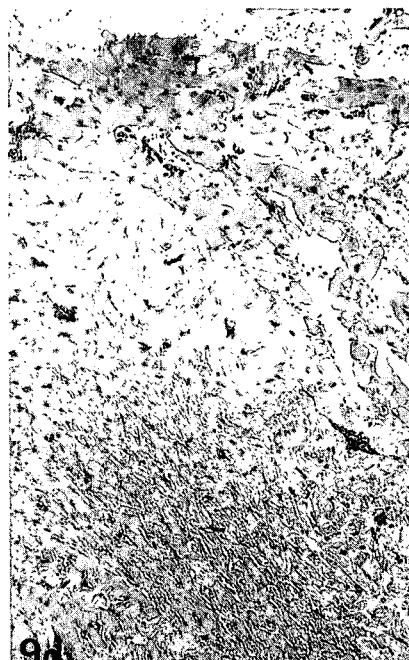
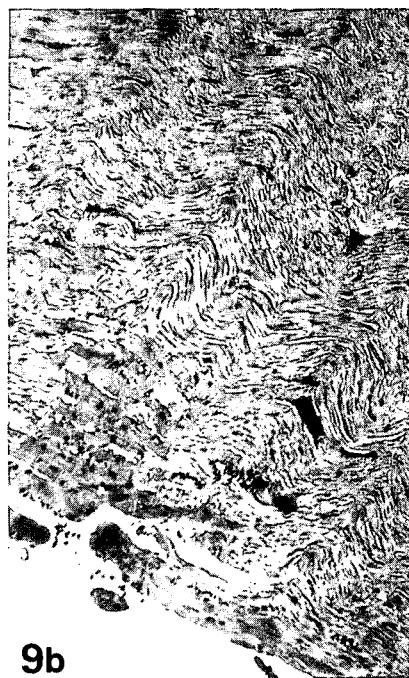
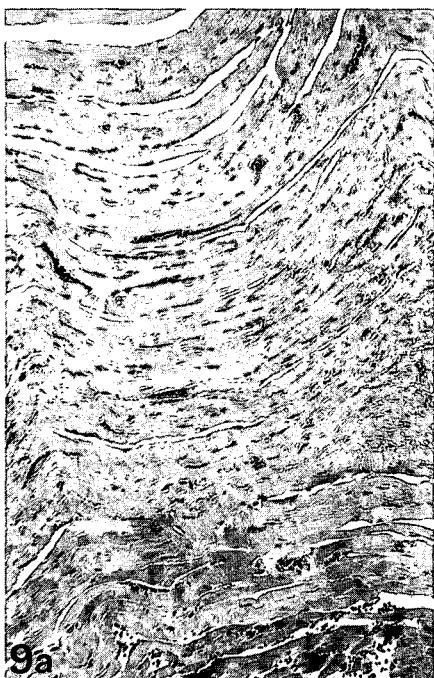


Fig.9. Hearts of the control rats (a) and the CdCl₂-treated rats(b; 0.8mg/kg, c; 0.8mg/kg, d; 3.2 mg/kg) H-E, $\times 100$.
a; Myocardial cells are well preserved. Myofibers run parallelly and contain centrally located nuclei. b;
Myofibers show waviness. c; Myofibers show contracture and focal myofibrillolysis. d; Myofibers show
contracture and focal myofibrillolysis, which were more aggravated than in the c figure.

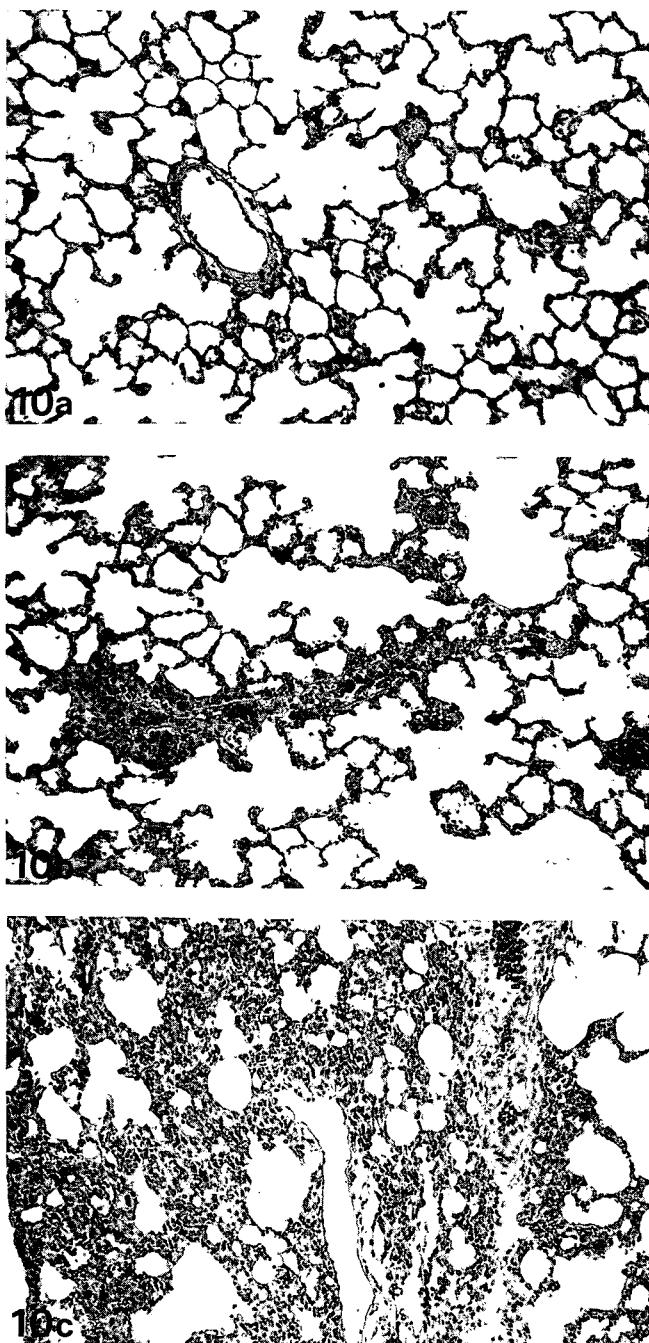


Fig.10. Lungs of the control rats (a) and the CdCl_2 -treated rats (b; 2.4mg/kg, c; 3.2mg/kg) H-E, $\times 100$. a; Alveolar septal wall is intact and the air spaces are relatively well preserved. b; Alveolar septal wall thickening and mild inflammatory cell infiltration in interstitial tissue are more evident than in the control. c; Alveolar septal wall thickening and inflammatory cell infiltration in interstitial tissue are more aggravated than in the k figure.

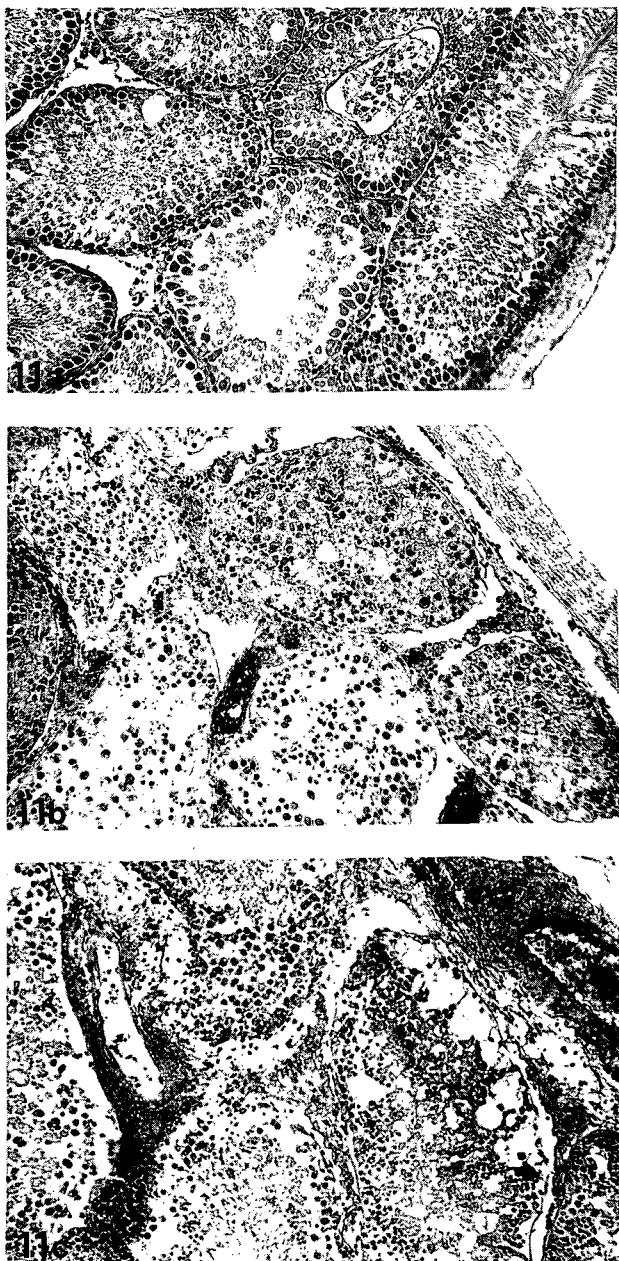


Fig.11. Testes of the control rats (a) and the CdCl_2 -treated rats(b; 1.6mg/kg, c; 3.2mg/kg), H-E, $\times 100$. a; Relatively intact and spermatogenic cells are well preserved. b; Degeneration of spermatogenic cells and destruction of interstitial cells are found. c; Degeneration of spermatogenic cells and destruction of interstitial cells become more aggravated than in the b figure. Large vacuoles are evident around in the basement membrane of seminiferous tubule and interstitial hemorrhage are found.

IV. 고 칠

여러 경로를 통해 체내에 들어온 카드뮴의 체내 분포에 있어 표적장기는 간장과 신장이다(Suzuki, 1980). 체내 흡수된 카드뮴은 수시간내 일차적으로 간장에 흡수되고, 시간이 지남에 따라 간장내 카드

뮴농도는 감소하면서 신장의 카드뮴농도는 증가하는 양상을 나타낸다(Yoshikawa, 1974; Tandon과 Asokan, 1981). 그러나, 카드뮴의 독성작용에 의한 조직병리학적 변화는 간장과 신장은 비교적 내성이 강하며, 고환의 경우 조직내 카드뮴 축적량은 비록 소량이지만 저농도의 카드뮴에 의해서 심한 조직손상이 나타나 고환조직이 카드뮴 독성에 민감한 장기로 알려져 있다(Parizek과 Zahor, 1956).

Table 1. Histopathological findings in rats with cadmium chloride solution at different doses

Organ Dosage of Cd	Kidney	Liver	Lung	Testis	Heart
0.2 mg CdCl ₂ /kg	N.S. (0.415 ± 0.075)	N.S. (1.757 ± 0.353)	N.S. (0.054 ± 0.006)	N.S. (0.052 ± 0.011)	N.S. (0.127 ± 0.036)
0.4 mg CdCl ₂ /kg	N.S. (0.674 ± 0.081)	N.S. (3.202 ± 0.451)	N.S. (0.103 ± 0.019)	N.S. (0.081 ± 0.018)	N.S. (0.230 ± 0.045)
0.8 mg CdCl ₂ /kg	N.S. (1.485 ± 0.377)	N.S. (6.489 ± 1.257)	N.S. (0.201 ± 0.053)	N.S. (0.119 ± 0.023)	-contracture band -focal myofibrillolysis (0.424 ± 0.025)
1.6 mg CdCl ₂ /kg	N.S. (2.920 ± 0.489)	N.S. (11.810 ± 1.345)	-alveolar septal wall thickening -inflammatory cell infiltration (0.309 ± 0.086)	-destruction of seminiferous epi. -interstitial fibrosis (0.138 ± 0.017)	-contracture band -focal myofibrillolysis (0.621 ± 0.110)
2.4 mg CdCl ₂ /kg	N.S. (3.963 ± 0.553)	-inflammatory cell infiltration (17.329 ± 2.414)	-alveolar septal wall thickening -inflammatory cell infiltration (0.492 ± 0.095)	-destruction of seminiferous epi. -interstitial fibrosis (0.171 ± 0.024)	-contracture band -focal myofibrillolysis (0.906 ± 0.089)
3.2 mg CdCl ₂ /kg	N.S. (5.965 ± 1.151)	-inflammatory cell infiltration -reduced granularity (21.086 ± 2.687)	-alveolar septal wall thinkening -inflammatory cell infiltration (0.685 ± 0.143)	-destruction of seminiferous epi. -interstitial fibrosis (0.202 ± 0.040)	-contracture band -focal myofibrillolysis (1.453 ± 0.213)

*Value in parenthesis represents mean and standard deviation of tissue Cd concentration in each group

염화카드뮴을 럽트 체중 kg당 0.2mg에서 3.2mg를 1회 정맥주사 후 48시간에서 카드뮴의 체내 분포양상을 조사한 결과, 각 장기내 카드뮴축적량은 투여량에 비례하여 증가하여 간장에서 가장 높았고 신장, 심장, 폐 그리고 고환조직 순으로 축적되었다 (Fig. 1).

이번 연구에서 나타난 조직병리학적 소견을 조직내 카드뮴농도에 따라보면 카드뮴 독성에 대한 장기의 민감성은 차이가 있었다(표 1). 즉, 대조군에 비해 이상소견이 관찰되기 시작한 조직내 카드뮴 농도를 볼 때, 고환조직이 가장 민감하게 나타나 $0.138 \pm 0.017\mu\text{g Cd/g wet weight}$ (1.6mg/kg군)였고, 폐 $0.309 \pm 0.086\mu\text{g Cd/g wet weight}$ (1.6mg/kg군), 심장 $0.424 \pm 0.025\mu\text{g Cd/g wet weight}$ (0.8mg/kg군), 간장 $17.329 \pm 2.414\mu\text{g Cd/g wet weight}$ (2.4mg/kg군) 순 이었고, 신장은 3.2mg/kg군에서도 대조군에 비해 특이한 소견이 관찰되지 않았다. 그러나, 카드뮴투여량에 대한 각 조직의 민감성은 심장조직이 0.8mg/kg군에서부터 심근원섬유의 과수축, 심근세사의 소실 등의 소견이 있어 가장 저농도의 폭로군에서 이상소견이 관찰되기 시작했다. 카드뮴에 의해 고환조직의 선택적 손상(Parizek과 Zahor, 1956), 카드뮴 경구투여시 심장소견의 이상(Kopp 등, 1982; Jamall과 Smith, 1985) 등이 이미 보고된 바 있으나, 이번 연구의 형태학적인 관찰결과에서 폭로량으로 볼 때 심장조직의 이상소견이 다른 조직에서 형태학적인 변화가 관찰되는 폭로량보다 낮은 폭로군에서 관찰되어 카드뮴이 심장에 미치는 영향에 대해 추후 좀더 연구해야 할 것으로 생각된다. 심장에 대한 카드뮴의 작용은 혈압을 높이거나 낮추는 효과가 있다는 등 서로 다르게 보고되고 있고 역학조사결과 카드뮴 비오염지역 주민들에서의 심혈관계질환으로 인한 표준화사망비가 오염지역 주민들에서 보다 오히려 높다고 보고되는 등 의견이 구구하다(Engvall과 Perk, 1985; Boscolo와 Carmignani, 1986; Nomiyama, 1986). 이번 연구 결과에서 카드뮴 정맥주사후 48시간에서 나타난 럽트의 심장조직소견의 심근원섬유의 과수축, 심근세사의 소실 등을 고혈압성 심질환에 의한 심장소견이라기 보다는 허혈성 심질환시 나타나는 소견(Kim과 Rah, 1988)과 유사한 것으로 미루어 보아 카드뮴 중

독에서는 고혈압성 심질환보다는 허혈성 심질환의 유발가능성이 더 클 것으로 생각된다.

카드뮴의 독성작용은 체내로 과잉 흡수된 카드뮴이 metallothionein(MT)과 결합하고 남은 유리 카드뮴에 의한 것(Din과 Frazier, 1985)으로 알려져 있다. 유리 카드뮴에 의해 생산된 free radical에 의한 조직손상의 방어기전으로 superoxide dismutase와 catalase 등이 중요한 역할을 하는 것으로 국내외에서 보고되고 있다(박정덕과 정규철, 1989; Hussain 등, 1987). 또한, 카드뮴에 폭로시 체내에서 MT의 합성이 유도(induction)되어 카드뮴과 결합함으로서 독성을 약화시키는 역할을 한다고 알려져 있다(Goering과 Klaassen, 1984).

MT은 1957년 말의 신장 피질에서 '카드뮴 결합형 단백질(cadmium binding protein)'로 처음으로 분리(Margoshes와 Vallee, 1957)되었으며, 분자량 약 6,000-6,500의 저분자량 단백질로서 열에 대한 내성이 강하고, 화학적으로 방향족 아미노산이나 histidine이 없으면 cystein이 풍부하여 Ag^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} 등과 같은 금속이온과의 친화력이 매우 높은 특성을 가지고 있는 세포질 단백질로 알려져 있다(Cherian과 Goyer, 1978; Hamer, 1986).

체내에서 합성된 MT의 카드뮴에 대한 방어기전은 cystein이 풍부한 MT이 카드뮴과 결합함으로서 카드뮴에 대한 독작용을 무독화시키며, 카드뮴의 세포내 분포를 변화시킴으로서 즉 혁, 미토콘드리아, 리보소ーム, 핵막, 세포막 및 세포질 고분자단백질 등에의 분포 보다는 Cd-MT 형태로서 세포질에 분포함으로서 방어효과가 있다(Goering & Klaassen, 1983; Kerchaw 등, 1990)고 알려져 있다.

과량의 카드뮴 폭로시 간장의 손상은 비교적 급성장애로 나타나며, 신장은 만성장애시 나타난다. 이는 카드뮴 폭로시 간장에서 MT의 합성이 증가되어 Cd-MT 복합체를 형성하나 과잉 흡수된 카드뮴에 의한 유리카드뮴이 간장조직을 손상시킨다. 간장조직의 Cd-MT 복합체는 혈중으로 유리되어 신장의 근위세뇨관 세포에 침착된 후, 리소조음에서 Cd-MT 복합체가 분해되어 유리되는 카드뮴이 신장손상에 크게 영향을 미치는 것으로 설명되고 있다(Dudley 등, 1985).

본 연구에서 급성카드뮴 중독시 간장에서는 염화 카드뮴 2.4mg/kg 이상 투여군에서 형태학적 이상소견이 관찰되었으나, 신장조직은 대조군에 비해 특이 소견이 없었던 것은 카드뮴에 폭로된 후 비교적 짧은 시간인 48시간에 실험동물을 회생시켰기 때문인 것으로 사료된다. 이번 연구는 폭로시간에 의한 제 한점이 있으므로 추후 카드뮴투여후 경과시간에 따른 간장과 신장에서의 카드뮴축적량의 변화양상과 이에 따른 조직병리소견에 대한 연구가 수반되어 폭로량에 따른 신장조직의 손상시기가 밝혀져야 할 것이다.

카드뮴을 농도별로 투여하였을 때 조직내 카드뮴의 축적을 조사한 결과에서 간장과 신장에서는 총 카드뮴은 물론 MT-결합형 카드뮴(MT-bound cadmium)도 투여된 카드뮴량에 따라 증가하였고 카드뮴 투여량이 증가할수록 MT과 결합된 결합형의 카드뮴비가 증가하여(Fig. 2), 카드뮴 폭로시 MT의 합성이 증가되어 방어효과를 가짐을 간접적으로 시사해 준다. 간장에서 카드뮴투여량에 따라 결합형 카드뮴이 총 카드뮴의 18.0~37.5%, 신장에서는 11.8~24.3%로서 Goyer 등(1989)의 보고에 비해 낮게 나타났다. 이는 이번 연구방법에 기인한 것으로 즉, 카드뮴을 1회만 투여했기 때문에 간장과 신장에서의 MT 생성이 제한적이었던 것으로 사료된다. 또한 Goyer 등(1989)은 결합형 카드뮴비가 간장 보다 신장에서 낮게 나타나는 것은 만성 카드뮴 중독시 신장에서의 독성작용의 중요한 지표가 된다고 하였다. 이번 결과에서의 신장조직의 결합형 카드뮴비가 간장조직에서 보다 낮게 나타난 것도 폭로시간이 길수록 신장의 손상에 대한 하나의 지표가 될 것으로 사료된다. 고환과 폐조직에서 MT-결합형 카드뮴이 거의 증가되지 않은 것은 급성카드뮴 폭로시 비교적 초기에 조직손상이 나타난 것으로 일부 설명될 수 있다. 특히, 고환은 카드뮴 폭로시 MT과 유사한 단백질의 합성이 촉진되나 이는 MT과 물리적 성상은 비슷하나 화학적 성상이 다른 것으로 밝혀졌다(Waalkes 등, 1988). 신장조직에서는 MT 결합형 카드뮴이 폐와 고환조직에 비해 다소 증가하였으나, 이번 연구결과 카드뮴투여량에 가장 민감한 장기로 나타났다. 이는 독성물질에 대한 민감성이 종, 장기, 연령, 성 및 투여방법 등

에 따라서 차이가 인정되는 것(Teare 등, 1978; Wong과 Klaassen, 1980; Sendelbach 등, 1992)으로 설명될 수 있으나, 앞으로 좀더 연구해 보아야 할 과제로 생각된다.

이번 연구에서의 혈중카드뮴농도는 염화카드뮴 0.2~3.2mg/kg을 1회 정맥주사한 후 48시간에서는 투여량에 거의 비례적으로 증가되어 투여량과 혈중 카드뮴량간에는 직선회귀관계가 성립되었다(Fig. 3, $r = 0.9768$, $F = 685.5$, $p < 0.01$). 또한 간장, 신장, 심장, 폐 및 고환조직내의 카드뮴농도는 혈중 카드뮴량과 매우 상관이 높아 혈중 카드뮴농도에 대한 조직내 카드뮴량간에 직선회귀관계가 성립되었다(Fig. 4). 그러나, Lucis(1969)는 카드뮴 (^{109}Cd)을 1회 피하주사한 후 시간경과에 따른 혈장내 카드뮴을 관찰한 결과 주사후 급격히 증가하였다가 계속 감소한다 하였고, Yoshikawa(1973)의 랫트 복강내로 카드뮴을 1회 주사한 연구에서 첫 24시간 동안에 혈중 카드뮴은 증가하였다가 그후 서서히 감소하는 양상을 나타내었다. 향후 이번 자료를 기본으로하여 카드뮴투여량별로 시간경과에 따른 연구조사가 뒤따른다면 폭로량과 폭로시간에 따른 각 장기내 카드뮴축적량은 혈중 농도를 측정함으로서 추정할 수 있으리라 사료된다.

카드뮴에 폭로시 대부분 종의 포유동물에서는 MT의 합성이 증가된다. 이때 카드뮴에 의한 MT합성 장기는 간장과 신장으로 알려져 있으며, 폭로후 간장에서는 6~12시간, 신장에서는 3시간 후가 MT의 최고 합성시기이다. 또한 폭로후 간장조직에서는 36~48시간에, 신장조직에서는 36~72시간에 최고 농도로 유지되며 MT의 농도가 신장보다 간장에서 높아 간장이 카드뮴에 의한 MT합성의 일차적인 장기라고 보고(Probst 등, 1977)된 바 있다. Frazier와 Puglese(1978)는 간장과 신장에서의 카드뮴에 의한 MT 생성은 투여량에 따라 증가하는 양상의 양-반응 관계를 나타낸다고 하였다.

이번 연구에서도 간장과 신장조직내의 MT량은 카드뮴 투여량에 따라 증가하여 카드뮴폭로량에 따라 간장, 신장에서의 MT 합성이 촉진됨을 나타내었다(Fig. 5). 또한, 0.2~3.2mg CdCl₂/kg에 폭로시 간장에서 생성된 MT량은 40.0 $\mu\text{g/g}$ wet weight에서 299.9 $\mu\text{g/g}$ wet weight로서 신장의 16.3 $\mu\text{g/g}$

wet weight에서 $50.8\mu\text{g/g}$ wet weight 보다 폭로량에 따라 약 3배에서 6배 까지 높았다. 이로보아 카드뮴에 폭로시 MT 합성의 일차적인 장기는 신장보다는 간장이라는 사실을 확인할 수 있었다(Probst 등, 1977).

각 장기내 MT의 합성은 투여량보다 조직내 카드뮴량에 의해 직접적인 영향을 받으므로, 조직내 카드뮴량과 MT량과의 관계를 비교해 본 결과(Fig. 6) 조직내 카드뮴량이 많을수록 MT량의 합성이 증가하였다($r = 0.9237$ for liver; $r = 0.9323$ for kidney). 이때 조직내 카드뮴 μg 당 생성되는 MT량의 증가율이 신장에서 보다 간장에서 훨씬 컷는데 ($\beta = 13.7810$ for liver; $\beta = 6.0608$ for kidney) 이는 카드뮴에 의한 MT 합성능력이 신장보다 간장에서 더 크다는 것을 시사한다. 또한, 조직내 카드뮴 μg 당 합성된 MT량은 간장과 신장 모두에서 투여량이 적을수록 μg MT/ μg Cd의 비가 더욱 커서(Fig. 5) 소량의 카드뮴에 폭로되었을 때 MT의 합성이 더욱 효율적임을 확인할 수 있었다(McKim 등, 1992).

V. 맺 음 말

랫트의 체중 kg당 0.2~3.2mg의 염화카드뮴용액을 6단계 용량별로 1회 꼬리정맥주사후 48시간에서 에테르 마취하에 회생시켜 체내에 흡수된 카드뮴의 분포양상 및 조직병리소견과 간장, 신장에서의 metallothionein(MT)의 생성, 카드뮴과 MT의 결합 등을 관찰하였다. 이때 조직내 카드뮴량은 double beam flameless A.A. spectrophotometer로 정량하였고, MT량은 Ag-saturation 법으로, 조직표본은 hematoxylin-eosin 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

체내 카드뮴 분포양상은 간장, 신장, 심장, 폐, 고환순이었다. 각 조직별 총 카드뮴농도는 투여량에 비례하여 증가하였고, MT-결합형 카드뮴(MT-Cd) 및 총 카드뮴량에 대한 MT-Cd의 비는 투여량에 따라 간장과 신장에서는 증가하였고, 기타 장기에서는 큰 변화가 없었다. 조직병리학적 소견상 카드뮴에 가장 민감한 장기는 조직내 카드뮴 축적량으로 볼

때는 고환이었으나 폭로량에 따른 가장 민감한 장기는 심장이었다. 혈중 카드뮴농도는 투여량에 따라 거의 비례적으로 증가하였고, 각 장기별 카드뮴 농도는 혈중 카드뮴 농도와 유의한 상관관계가 있어 투여량에 따라 혈중 농도로 부터 조직내 카드뮴농도를 추정할 수 있었다.

카드뮴투여량에 따라 간장과 신장에서의 MT의 생성이 증가되었고, MT 생성량은 신장보다 간장에서 높았다. 또한 조직내 카드뮴축적량과 MT량 간에는 매우 유의한 상관이 있었고, 조직내 카드뮴 μg 당 MT의 생성능력은 신장보다 간장에서 높았으며, 카드뮴 μg 당 MT량으로 본 생성효율은 간장, 신장 모두에서 투여량이 적을수록 높게 나타났다.

참 고 문 헌

- 김남송, 이재형, 고대하, 기노석, 황인답. Cadmium에 의한 흰쥐의 간장 및 신장의 Metallothionein 변화와 방어효과. 예방의학회지 1991; 24(3): 287-304
- 김인봉, 박정덕, 홍연표, 장임원. 카드뮴 정맥주사시 랫트의 치사율과 간, 신에서의 양-반응관계. 중앙의대지 1992; 17(4): 359-367
- 노동부. 근로자 건강진단 관계규정 (노동부고시 제 92-9 호). 서울, 노동부, 1992, 41-47
- 박정덕, 정규철. 급성카드뮴 중독에 의한 랫트의 간, 신 및 고환조직의 손상에 미치는 Diethyldithiocarbamate의 방어효과. 중앙의대지 1989; 14(2): 187-207
- 엄형택, 송동빈, 차철환. 백서의 카드뮴중독시 BAL 및 DMSA와 마늘의 방어효과에 대한 비교연구. 고려대학교 의과대학 논문집 1986; 23(1): 109-120
- 정규철, 박정덕, 조병희. 급성 카드뮴중독의 치사량과 혈액 및 간조직에 미치는 영향. 중앙의대지 1988; 13(1): 31-43
- Boscolo P, Carmignani M. Mechanisms of cardiovascular regulation in male rabbits chronically exposed to cadmium. Br J Ind Med 1986; 43: 605-610

- Cherian MG, Goyer RA. *Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals*. *Life Sci* 1978; 23: 1-10
- Chia KS, Ong CN, Ong HY, Endo G. *Renal tubular function of workers exposed to low levels of cadmium*. *Br J Ind Med* 1989; 46: 165-170
- Din WS, Frazier JM. *Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocytes*. *Biochem J* 1985; 230: 395-402
- Dudley RE, Gammal LM, Klaassen CD. *Cadmium-induced hepatic and renal injury in chronically exposed rats: Likely role of cadmium-metallothionein in nephrotoxicity*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 77: 414-426
- Engvall J, Perk J. *Prevalence of hypertension among cadmium-exposed workers*. *Arch Environ Health* 1985; 40: 185-190
- Fassett DW. *Cadmium: Biological effects and occurrence in the environment*. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1975; 15: 425-435
- Frazier JM, Puglese J. *Dose dependence of cadmium kinetics in the rat liver following intravenous injection*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1978; 43: 461-474
- Goering PL, Klaassen CD. *Altered subcellular distribution of cadmium following cadmium pretreatment: Possible mechanism of tolerance to cadmium-induced lethality*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983; 70: 195-203
- Goering PL, Klaassen CD. *Tolerance to cadmium-induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 74: 308-313
- Goyer RA, Miller CR, Zhu S, Victery W. *Non-metallothionein-bound cadmium in the pathogenesis of cadmium nephrotoxicity in the rat*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989; 101: 232-244
- Hamer DH. *Metallothionein*. *Ann Rev Biochem* 1986; 55: 913-951
- Hussain T, Shukla GS, Chandra SV. *Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: In vivo and in vitro studies*. *Pharmacol Toxicol* 1987; 60: 355-358
- Jamall IS, Smith JC. *Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation in the rat heart: A possible mechanism of cadmium cardiotoxicity*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 80: 33-42
- Kershaw WC, Iga T, Klaassen CD. *Ethanol decreases cadmium hepatotoxicity in rats: Possible role of hepatic metallothionein induction*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990; 106: 448-455
- Kim HD, Rah BJ. *Effects of diltiazem on isoproterenol- or Ca-induced ventricular myocardial cell injuries in isolated perfused rabbit heart: an electron microscopic study*. *Anat Rec* 1988; 222: 260-271
- Kopp SJ, Glonek T, Perry HM Jr, Erlanger M, Perry EF. *Cardiovascular actions of cadmium at environmental exposure levels*. *Science* 1982; 217: 837-839
- Lucis OJ, Lynk ME, Lucis R. *Turnover of cadmium 109 in rats*. *Arch Environ Health* 1969; 18: 307-310
- Margoshes M, Vallee BL. *A cadmium protein from equine kidney cortex*. *J Am Chem Soc* 1957; 79: 4813-4814
- McKim JM Jr, Liu J, Liu YP, Klaassen CD. *Induction of metallothionein by cadmium-metallothionein in rat liver: A proposed mechanism*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992; 112: 318-323
- Nandi M, Jick H, Slone D, Shapiro S. *Cadmium content of cigarettes*. *Lancet* 1969; 1: 1329-1330
- Nomiyama K. *The chronic toxicity of cadmium: Influence of environmental and other variables*. *In Handbook of Experimental Pharmacology*,

- Ed. Foulkes EC. Vol. 80, Berlin, Springer-Verlag, 1986. pp. 101-131*
- Onosaka S, Cherian MG. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods. *Toxicol Appl Pharmacol* 1982; 63: 270-274
- Page AL, El-Amamy MM, Chang AC. Cadmium in the environment and its entry into terrestrial food chain crops. In *Handbook of Experimental Pharmacology*, Ed. Foulkes, EC, Vol. 80. Berlin, Springer-Verlag, 1986, pp. 33-74
- Parizek J, Zahor Z. Effect of cadmium salts on testicular tissue. *Nature* 1956; 177: 1036
- Parker MM, Humoller FL, Mahler DJ. Determination of copper and zinc in biological material. *Clin Chem* 1967; 13: 40-48
- Perry EF, Koirtyohann SR, Perry HM Jr. Determination of cadmium in blood and urine by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry. *Clin Chem* 1975; 21: 626-629
- Probst GS, Bousquet WF, Miya TS. Kinetics of cadmium-induced hepatic and renal metallothionein synthesis in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977; 39: 51-60
- Roels H, Bernard AM, Cardenas A, Buchet JP, Lauwerys RR, Hotter G, Ramis I, Mutti A, Franchini I, Bundschuh I, Stolte H, De Broe ME, Nuyts GD, Taylor SA, Price RG. Markers of early renal changes induced by industrial pollutants. III Application to workers exposed to cadmium. *Br J Ind Med* 1993; 50: 37-48
- Scheuhammer AM, Cherian MG. Quantification of metallothioneins by a silver-saturation method. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986; 82: 417-425
- Sendelbach LE, Kershaw WC, Cuppage F, Klaassen CD. Cd-metallothionein nephrotoxicity in inbred strains of mice. *J Toxicol Environ Health* 1992; 35: 115-126
- Shimada H, Kawagoe M, Kamenosono T, Kiyozumi M, Funakoshi T, Kojima S. Comparative effects of *N,N*-disubstituted dithiocarbamates on excretion and distribution of cadmium in mice. *Toxicology* 1991; 68: 157-167
- Smith NJ, Topping MD, Stewart JD, Fletcher JG. Occupational cadmium exposure in jig solderers. *Br J Ind Med* 1986; 43: 663-666
- Stokinger HE. *The Metals: Cadmium*. In *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*. Vol IIA, Toxicology, ED. Clayton, GD and Clayton, FE, 3rd Rev. ed. New York, Wiley Interscien, 1981, pp. 1563-1583
- Suzuki Y. Cadmium metabolism and toxicity in rats after long-term subcutaneous administration. *J Toxicol Environ Health* 1980; 6: 469-482
- Tandon SK, Asokan P. Distribution of intratracheally administered cadmium in rats. *Acta Pharmacol Toxicol* 1981; 49: 381-383
- Teare FW, Read PR, Pyttel RB, Jasansky PA. Short- and long-term cadmium distribution in rat livers after different routes of administration. *Arch Environ Health* 1978; 33: 53-58
- Tsuchiya K. Causation of ouch-ouch disease. Part II. Epidemiology and evaluation. *Keio J Med* 1969; 18: 195-211
- Waalkes MP, Perantoni A, Bhave MR, Rehm S. Strain dependence in mice of resistance and susceptibility to the testicular effects of cadmium: Assessment of the role of testicular cadmium-binding proteins. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 93: 47-61
- Wong KL, Klaassen CD. Age difference in the susceptibility to cadmium-induced testicular damage in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 55: 456-466
- World Health Organization Study Group. Recommended health-based limit in occupational exposure to heavy metals. *Tech Rep Ser Wld Hlth Org No.* 647. 1980, pp. 21-35
- Yoshikawa H. Preventive effects of pretreatment with cadmium on acute cadmium poisoning.

Ind Health 1973; 11: 113-119
Yoshikawa H. *Accumulation and clearance of
cadmium, copper, and zinc in organs of rats*

*following single injections of cadmium. Jap J
Ind Health* 1974; 16: 488-489