

自然産物을 이용한 니켈 毒性的의 解毒에 關한 研究

이기남 · 유일수* · 이종섭**

원광대학교 한의과대학, *이리 농공 전문대학, **원광대학교 의과대학

A Study on Antitoxic Effects of Natural Products Against Nickel Toxicity

Ki Nam Lee, Il Soo You* and Jong Sub Lee**

Department of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

**Department of Chemical Engineering, Iri National College of Agricultural and Technology*

***Department of Preventive Medicine & Public Health, School of Medicine, Wonkwang University*

ABSTRACT

This study was performed to find out the detoxication effects of natural products Thuja orientalis, leaf of acorn, aloe ferox mill, pine cone, pine root, lonicerae flos on nickel toxicity. The experimental rats were divided into 3 groups such as nickel alone treatment group, natural products treatment groups before and after nickel treatments. Each group was administered with difference dose of nickel such as 6.6 mg/kg/day, 13.2 mg/kg/day, 19.8 mg/kg/day respectively, for 14 days. Natural products were administered by 400 mg per kilogram body weight rat per day. The weight change of rats, nickel concentration in organs, survival rate of rats, morphology of organs were observed in the experimental groups.

The results obtained by the experiment were as follows :

1. The rats in the group treated with natural products had no effect on the weight gain.
2. The mean survival rate of rats in the nickel alone treatment group was 72.5% (6.6 mg/kg/day), 68.9% (13.2 mg/kg/day), 60.2% (19.8 mg/kg/day) respectively.
3. As for the amount of nickel accumulation in organs, it was the lowest amount treated with pine cone, pine root in that order.
4. When kidney and liver tissues were observed with as optical microscope, obvious change were visible in those tissues treated groups with Lonicerae and Aloe.

Keywords : Nickel toxicity, natural products, antitoxic effects

I. 서 론

우리나라는 1960년대 이후 산업이 고도화되어 경제성장과 생산공정의 현대화가 이루어짐에 따라서 각종 환경오염물질이 생활환경 및 산업현장에서 심각한 건강 위협요인으로 대두됨으로써 사회전반에 걸쳐 문제가 되고 있다. 특히 환경오염문제를 야기시키는 중금속은 생체내에 들어오면 축적되기 쉽고 사람의 건강을 해칠 뿐만 아니라 동식물을 포함하는

자연생태계 전반에 피해를 줄 수 있기 때문에 보건학적으로 대단히 중요하다. 대기, 수질 및 식품 등을 통하여 인체에 흡수된 중금속은 금속이온 혹은 혈장 단백질과 결합된 상태로 신경계, 간장, 신장 및 폐 등의 장기에 흡수, 축적되어 생리적, 기능적 장애뿐 아니라 형태적, 유전적 그리고 생화학적 변화를 초래하여 인간의 생존을 위협하기도 한다.¹⁾

중금속 중 니켈은 원자량이 28인 은백색의 금속으로서 수용성 화합물인 nickel oxide, nickel carbonate, nickel sulfide 및 nickel subsulfide와 수용성염의 형태인 nickel chloride, nickel sulfate 및 nickel nitrate 등으로 존재하는데 공업적으로는 전

본 연구는 1992년 한국학술진흥재단 대학부설연구소 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

기도금이나 니켈제련공정 등에 주로 사용된다.²⁾

근래에 Sunderman 등은 니켈화합물은 대기 중 흙(fume)의 형태로 인체의 호흡기를 통하여 흡입되면 비장 및 폐에서 종양발생의 위험도를 증가시키고,³⁾ 염색체 이상까지 초래한다⁴⁾는 역학조사의 결과를 보고하였다. 또한 실험적으로 Stoner 등⁵⁾은 니켈화합물을 마우스에 경구투여하여 폐선종의 발생증가, Sundermann 등은 근육주사에 의한 근육종⁶⁾ 및 신장암⁷⁾ 등이 발생함을 보고하였다. 니켈의 발암기전은 니켈이 세포 DNA 분자에 결합하여서 인산화과정을 방해하여 변형과 변이를 초래한다⁸⁻¹¹⁾는 이론과 니켈이 면역기능의 이상을 초래하여 종양의 발생을 가능케함과 동시에 감염을 유발시킨다고 알려져 있다. 동물실험 결과에 의하면 니켈은 면역계의 기능을 저하시키며,^{12,13)} interferon 생성을 억제하고,¹⁴⁾ 세균¹⁵⁾ 및 바이러스¹⁶⁾ 감염을 조장하며, 항체형성능력을 저하시키고,^{17,18)} 대식세포(macrophage)의 탐식능,¹⁹⁾ 그리고 T림프구(lymphocyte) 매개형 면역반응 및 종양세포에 치사능을 나타내는 자연치사세포(natural killer cell)의 기능을 저하시킨다고 보고된 바 있다.²⁰⁾ 자연산물을 이용한 중금속 해독에 대한 연구는 아직 거의 없는 실정이나 현재 중금속 해독제로 이용하고 있는 BAL이나 EDTA의 간장 및 신장 등의 독성을 생각할 때 앞으로 인체에 유해하지 않은 중금속 해독제 개발의 필요성이 요구되어 본 실험에서는 중금속 해독제로써의 ligand 역할을 할 수 있을 것으로 문헌검토된 6가지 약초를 추출하여 그 효능을 찾고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

실험동물은 체중 250 g 정도의 Sprague-Dawley계 흰쥐(♂)로 원광대학교 의과대학 동물 사육실에서 분양받아 2주간 기본식이로 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

모든 실험동물은 cage당 3마리씩 배정하였고, 실험기간 동안 온도 20±2℃, 습도 60±5% 유지되도록 주의하였다. 실험동물은 6개 실험군과 3개의 대조군으로 총 9개군이 되었으며, 실험군당 6마리씩, 자연산물 6종류로 총 234마리의 rats를 실험대상으로 하였다(Table 1).

2) 자연산물

솔방울(pine cone)은 5월 말에 산에서 직접 채취한 어린 솔방울을 실험대상으로 하였으며, 소나무 뿌리(pine root)는 5월 20일에서 6월 20일 사이에 지하 30 cm 이하의 뿌리를 대상으로 하였으며, 알로에(aloe), 양금화(loniceriae)는 금산 약초시장에서 구입하였고, 측백나무(thuja orientalis), 졸참나무 잎(leaf of acorn)은 5월 20일에서 6월 20일 사이에 직접 채취하여 실험대상으로 하였다.

3) 니켈

본 실험에 사용한 니켈화합물은 nickel subsulfide (Ni₃S₂; 일본 Wako Chemical 제품, 특급)을 사용하였으며, 실험에 적용한 용량은 LD₅₀인 19.8 mg/kg/day 수준을 기준으로 하여 2/3 LD₅₀와 1/3 LD₅₀인 13.2 mg/kg/day와 6.6 mg/kg/day를 투여하였다.

2. 실험방법

1) 자연산물 추출

각 시료를 300 g 넣고 물 1l를 가하여 95~100℃ 물중탕하에서 3시간 추출하여 추출액을 흰쥐에게

Table 1. Experimental design

| Group | No. of rats | Dose of Ni ₃ S ₂ (mg/kg/day) | Duration of administration (days) | |
|-------------------------------|-------------|--|-----------------------------------|------------------|
| | | | Nickel | Natural products |
| Nickel alone | 6 | 6.6 | 14 | — |
| | 6 | 13.2 | 14 | — |
| | 6 | 19.8 | 14 | — |
| Natural products after Nickel | 6 | 6.6 | 14 | 14 |
| | 6 | 13.2 | 14 | 14 |
| | 6 | 19.8 | 14 | 14 |
| Nickel after natural products | 6 | 6.6 | 14 | 14 |
| | 6 | 13.2 | 14 | 14 |
| | 6 | 19.8 | 14 | 14 |

*Natural products : Thuja orientalis, leaf of acorn, aloe ferox mill, pine cone, pine root, loniceriae flos.

음용수로 자유롭게 음용하도록 하였다.

2) 니켈 축적량 분석

실험 24시간 전부터 절식한 흰쥐를 ether로 마취시키고 간장, 신장, 폐 및 골수를 적출하였고, 3차 증류수로 3회 세척하여 진공건조기(110°C)내에서 24시간 건조시킨 다음 200°C hot plate상에서 H₂SO₄, HNO₃ 및 HClO₄을 이용한 습식 탄화방법에 의하여 유기물을 분해시킨 후, C₆H₁₄N₂O₇(25 w/v%) 10 ml와 brom thymol blue 지시약 2~3방울 넣고 NH₄OH를 가하여 pH=9.5가 되도록 중화시켰다. (NH₄)₂SO₄ (40 w/v%) 10 ml가한 후 Separatory funnel에 옮기고 D,D,T,C(10 w/v%) 10 ml넣고, M,I,B,K층을 분리시킨 후, 120°C hot plate상에서 MIBK를 휘산시킨 다음 0.1 N HCl용해한 후, wave length 232.0 nm, slit 0.2 nm의 분석조건에서 atomic absorption spectrophotometry(Varian spectr. AA-30)을 이용하여 장기내의 니켈함량을 측정하였다.

3) 니켈투여 장기의 병리 및 조직검사

실험동물을 ether로 마취시킨 다음에 간장 및 신장을 적출하고, 절취된 조직은 10%의 neutral formalin으로 24시간 동안 고정시켰고, 12~24시간 동안 수선을 시킨 후, 70%, 80%, 90%, 95% 및 100% 에탄올(ethyl alcohol)에 단계적으로 탈수과정을 거쳐 Xylene I, II, III로 투명시킨 후 paraffin으로 침투를 시켰다. 그 다음에 paraffin으로 포매를 한 후, 4 µm 두께로 절편하여 hematoxylin-Eosin 염색하였다. 마지막으로 최종탈수 및 Xylene으로 투명시키고 봉입하였다. 각각의 조직은 광학현미경으로

검경하였으며, 모두 200배의 배율로 촬영하였다.

III. 결 과

Ni₃S₂ 투여군의 생존율은 투여량이 증가할수록 생존율이 감소하는 것(6.6 mg/kg/day; 72.5%, 13.2 mg/kg/day, 19.8 mg/kg/day; 60.2%)을 볼 수 있었으며, 측백나무 추출액에 의한 생존율의 영향은 거의 없는 것을 볼 수 있었다.

줄참나무 추출액 투여군에서 생존율은 6.6 mg/kg/day; 73.1%, 13.2 mg/kg/day; 67.7%, 19.8 mg/kg/day; 61.4%로서 측백나무 추출액 투여군과 별 차이가 없었으며, 알로에 투여군에서도 비슷한 양상을 볼 수 있었으며, 솔방울 추출액 투여군에서는 6.6 mg/kg/day; 60.3%, 13.2 mg/kg/day; 67.1%, 19.8 mg/kg/day; 63.5%의 생존율을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다. 소나무 뿌리 추출액 투여군의 흰쥐 생존율은 6.6 mg/kg/day; 70.8%, 13.2 mg/kg/day; 68.1%, 19.8 mg/kg/day; 61.1%의 생존율을 보였고, 양금화 추출액 투여군에서 6.6 mg/kg/day; 78.1%, 13.2 mg/kg/day; 74.9%, 19.8 mg/kg/day; 70.1%의 생존율을 보여 다른 자연산물 투여군에 비하여 높은 생존율을 보였다 (Table 2).

Ni₃S₂ 투여군의 체중 변화율은 니켈 투여량이 6.6 mg/kg/day인 집단에서 +10.6% 체중 증가를 볼 수 있었으며, 13.2 mg/kg/day 집단에서 +2.3%, 19.8 mg/kg/day에서 -6.1%로 니켈 투여량이 증가됨에

Table 2. Effect of natural products on the mean survival rate of rats fed with Ni₃S₂ (Unit : %)

| Group | Natural products | Dose of Ni ₃ S ₂ treated | | |
|---|---------------------|--|----------------|----------------|
| | | 6.6 mg/kg/day | 13.2 mg/kg/day | 19.8 mg/kg/day |
| Natural products after Ni ₃ S ₂ | Thuja orientalis L. | 69.3±4.9 | 71.1±5.6 | 62.4±8.1 |
| | leaf of acorn | 70.5±6.8 | 70.1±3.4 | 59.3±6.9 |
| | Aloe ferox mill | 74.1±3.9 | 70.9±2.8 | 63.5±5.7 |
| | Pine cone | 71.9±8.5 | 70.9±4.7 | 62.2±7.6 |
| | Pine root | 71.5±6.7 | 67.8±7.9 | 59.4±5.3 |
| | Lonicerae | 73.9±7.5 | 72.3±5.7 | 64.5±4.9 |
| Ni ₃ S ₂ after natural products | Thuja orientalis L. | 71.6±8.3 | 64.8±6.0 | 59.6±6.8 |
| | leaf of acorn | 73.1±6.0 | 67.7±8.8 | 61.4±7.6 |
| | Aloe ferox mill | 69.8±4.7 | 71.2±8.5 | 62.3±4.9 |
| | Pine cone | 60.3±4.9 | 67.1±8.9 | 63.5±6.2 |
| | Pine root | 70.8±3.9 | 68.1±6.7 | 61.1±8.8 |
| | Lonicerae | 78.1±6.0 | 74.9±8.3 | 70.1±8.6 |
| Ni ₃ S ₂ alone | | 72.5±6.2 | 68.9±8.6 | 60.2±7.2 |

따라서 흰쥐의 체중이 감소하는 것을 볼 수 있었다.

졸참나무 추출액 투여군 흰쥐의 체중 증가율은 니켈 투여량이 6.6 mg/kg/day인 집단에서 +10.9%, 13.2 mg/kg/day 집단에서 +2.3%, 19.8 mg/kg/day에서 -6.2% 감소, 알로에 추출액 투여군에서 니켈 투여량이 6.6 mg/kg/day인 집단에서 +12.8% 증가, 13.2 mg/kg/day 집단에서 +3.1% 증가, 19.8 mg/kg/day에서 -3.1% 감소하는 것을 보였고, 솔방울 추출액 투여군에서 니켈 투여량이 6.6 mg/kg/day인 집단에서 +9.8% 증가, 13.2 mg/kg/day 집단에서 +2.1% 증가, 19.8 mg/kg/day에서 -3.6% 감소로 나타났다. 즉 Ni₃S₂ 투여량이 증가됨에 따라서 흰쥐의 체중 증가율이 감소하는 것을 볼 수 있었다(Table 3).

측백나무 추출액 투여군의 흰쥐 조직내 니켈 축적량은 니켈만 투여시에 신장내 니켈함량은 4.51 mg/kg이었으나, 측백나무 추출액 투여 후 신장의 니켈함량은 4.49 mg/kg으로써 거의 흰쥐 신장에서 약간의 니켈 감소정도를 알 수 없었으며 간의 니켈 축적량 3.57 mg/kg에서 3.48 mg/kg으로 약간 감소하였으며, 폐에서의 니켈 함량은 5.19 mg/kg에서 5.07 mg/kg으로 나타나 흰쥐 조직내 니켈 감소관계를 기대할 수 있었다(Table 4).

양금화 추출액 투여군의 니켈 축적량은 니켈량이 13.2 mg/kg/day 투여군에서 보면, 간장에서 니켈만 투여시에는 4.20 mg/kg이었으나, 양금화 추출액을 투여함으로써 4.16 mg/kg으로 약간의 감소현상을 볼 수 있었으나, 신장에서는 니켈만 투여시 5.79 mg/

Table 3. Effect of natural products on the body weight of rats fed with Ni₃S₂ (Unit : %)

| Group | Natural products | Dose of Ni ₃ S ₂ treated | | |
|---|---------------------|--|----------------|----------------|
| | | 6.6 mg/kg/day | 13.2 mg/kg/day | 19.8 mg/kg/day |
| Natural products after Ni ₃ S ₂ | Thuja orientalis L. | 9.7± 4.1 | 1.3± 1.7 | -6.5± 3.4 |
| | Leaf of acorn | 8.9± 3.5 | 2.7± 4.1 | -5.9± 3.2 |
| | Aloe ferox mill | 12.3± 3.1 | 3.1± 2.0 | -3.5± 4.7 |
| | Pine cone | 12.5± 1.9 | 1.8± 0.9 | -7.3± 1.8 |
| | Pine root | 13.1± 2.6 | 3.0± 1.7 | -5.7± 4.1 |
| | Lonicerae | 10.7± 3.0 | 5.0± 4.3 | -7.2± 3.5 |
| Ni ₃ S ₂ after natural products | Thuja orientalis L. | 11.3± 3.5 | 2.0± 1.4 | -5.7± 5.9 |
| | leaf of acorn | 10.9± 3.5 | 2.3± 0.9 | -6.2± 1.9 |
| | Aloe ferox mill | 12.8± 4.0 | 3.1± 1.6 | -3.1± 2.6 |
| | Pine cone | 9.8± 4.1 | 2.1± 3.0 | -3.6± 3.6 |
| | Pine root | 11.6± 3.5 | 2.4± 2.0 | -6.2± 5.5 |
| | Lonicerae | 8.9± 2.1 | 2.1± 1.2 | -6.7± 1.8 |
| Ni ₃ S ₂ alone | | 10.6± 2.7 | 2.3± 2.1 | -6.1± 4.3 |

Table 4. Effect of *Thuja orientalis L.* on the accumulation of Ni₃S₂ in various organs of rats fed with Ni₃S₂

| Group | Concentration (ppm) of Ni ₃ S ₂ by dose and organs | | | | | | | | | | | |
|--|--|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | 6.6 mg/kg/day | | | | 13.2 mg/kg/day | | | | 19.8 mg/kg/day | | | |
| | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow |
| Ni ₃ S ₂ alone | 4.51 ± 1.61 | 3.57 ± 1.28 | 5.19 ± 2.11 | 9.60 ± 0.35 | 5.79 ± 1.48 | 4.20 ± 1.31 | 6.91 ± 1.15 | 11.25 ± 0.26 | 9.36 ± 2.94 | 7.19 ± 1.69 | 10.45 ± 2.16 | 13.38 ± 1.01 |
| Thuja after Ni ₃ S ₂ | 4.49 ± 0.86 | 3.38 ± 1.17 | 5.02 ± 0.84 | 9.61 ± 0.99 | 5.63 ± 1.42 | 4.17 ± 0.75 | 6.84 ± 1.32 | 11.31 ± 3.21 | 9.41 ± 1.90 | 7.11 ± 0.86 | 10.31 ± 1.10 | 13.49 ± 0.98 |
| Ni ₃ S ₂ after Thuja | 4.51 ± 1.81 | 3.48 ± 0.69 | 5.07 ± 0.56 | 9.54 ± 0.91 | 5.78 ± 1.11 | 4.19 ± 0.62 | 6.87 ± 1.19 | 11.29 ± 2.16 | 9.39 ± 1.82 | 7.09 ± 1.94 | 10.41 ± 1.86 | 13.41 ± 3.11 |

Table 5. Effect of *Lonicerae flos* on the accumulation of Ni_3S_2 in various organs of rats fed with Ni_3S_2

| Concentration (ppm) of Ni_3S_2 by dose and organs | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Group | 6.6 mg/kg/day | | | | 13.2 mg/kg/day | | | | 19.8 mg/kg/day | | | |
| | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow |
| Ni_3S_2 alone | 4.51 ± 1.61 | 3.57 ± 1.28 | 5.19 ± 2.11 | 9.60 ± 0.35 | 5.79 ± 1.48 | 4.20 ± 1.31 | 6.91 ± 1.15 | 11.25 ± 0.26 | 9.36 ± 2.94 | 7.19 ± 1.69 | 10.45 ± 2.16 | 13.38 ± 1.01 |
| <i>Lonicerae</i> after Ni_3S_2 | 4.60 ± 2.15 | 3.49 ± 0.94 | 5.18 ± 0.54 | 9.50 ± 1.79 | 5.84 ± 1.12 | 4.16 ± 1.11 | 6.75 ± 0.41 | 11.37 ± 2.19 | 9.47 ± 1.61 | 7.21 ± 2.35 | 10.27 ± 3.12 | 12.94 ± 0.96 |
| Ni_3S_2 after <i>Lonicerae</i> | 4.39 ± 1.12 | 3.56 ± 0.37 | 5.21 ± 1.96 | 9.48 ± 0.78 | 5.82 ± 1.03 | 4.15 ± 0.49 | 6.84 ± 2.15 | 11.12 ± 0.62 | 8.99 ± 3.13 | 6.92 ± 1.08 | 10.52 ± 4.17 | 12.85 ± 0.76 |

Table 6. Effect of leaf of acorn on the accumulation of Ni_3S_2 in various organs of rats fed with Ni_3S_2

| Concentration (ppm) of Ni_3S_2 by dose and organs | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Group | 6.6 mg/kg/day | | | | 13.2 mg/kg/day | | | | 19.8 mg/kg/day | | | |
| | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow |
| Ni_3S_2 alone | 4.51 ± 1.61 | 3.57 ± 1.28 | 5.19 ± 2.11 | 9.60 ± 0.35 | 5.79 ± 1.48 | 4.20 ± 1.31 | 6.91 ± 1.15 | 11.25 ± 0.26 | 9.36 ± 2.94 | 7.19 ± 1.69 | 10.45 ± 2.16 | 13.38 ± 1.01 |
| Acorn after Ni_3S_2 | 4.54 ± 0.92 | 3.61 ± 1.17 | 5.14 ± 0.87 | 9.51 ± 1.16 | 5.81 ± 0.71 | 4.19 ± 0.96 | 6.84 ± 1.14 | 11.31 ± 0.94 | 9.41 ± 1.32 | 7.23 ± 1.62 | 10.37 ± 1.43 | 13.46 ± 1.16 |
| Ni_3S_2 after Acorn | 4.50 ± 0.84 | 3.53 ± 0.72 | 5.16 ± 0.86 | 9.62 ± 1.31 | 5.82 ± 0.96 | 4.15 ± 1.10 | 6.77 ± 0.96 | 11.27 ± 0.72 | 9.40 ± 0.81 | 7.21 ± 1.16 | 10.41 ± 2.24 | 13.36 ± 0.97 |

Table 7. Effect of *Aloe ferox mill* on the accumulation of Ni_3S_2 in various organs of rats fed with Ni_3S_2

| Concentration (ppm) of Ni_3S_2 by dose and organs | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Group | 6.6 mg/kg/day | | | | 13.2 mg/kg/day | | | | 19.8 mg/kg/day | | | |
| | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow |
| Ni_3S_2 alone | 4.51 ± 1.62 | 3.57 ± 1.28 | 5.19 ± 2.11 | 9.60 ± 0.35 | 5.79 ± 1.48 | 4.20 ± 1.31 | 6.91 ± 1.15 | 11.25 ± 0.26 | 9.36 ± 2.94 | 7.19 ± 1.69 | 10.45 ± 2.16 | 13.38 ± 1.01 |
| <i>Aloe</i> after Ni_3S_2 | 4.62 ± 0.94 | 3.53 ± 0.92 | 5.21 ± 2.01 | 9.64 ± 1.16 | 5.67 ± 0.99 | 4.15 ± 0.42 | 6.85 ± 0.92 | 11.18 ± 3.12 | 9.32 ± 1.19 | 7.01 ± 0.94 | 10.37 ± 1.16 | 13.25 ± 1.32 |
| Ni_3S_2 after <i>Aloe</i> | 4.70 ± 0.81 | 3.61 ± 0.71 | 5.16 ± 0.77 | 9.42 ± 1.85 | 5.62 ± 1.17 | 4.18 ± 1.11 | 6.87 ± 2.15 | 11.29 ± 1.43 | 9.43 ± 2.02 | 7.09 ± 1.98 | 10.24 ± 0.91 | 13.49 ± 0.92 |

kg에서 양금화 추출액 투여로 오히려 5.84 mg/kg으로 증가하는 등 일관성 있는 결과를 얻지 못했다 (Table 5).

졸참나무 잎 추출액 투여군의 흰쥐 조직내 니켈

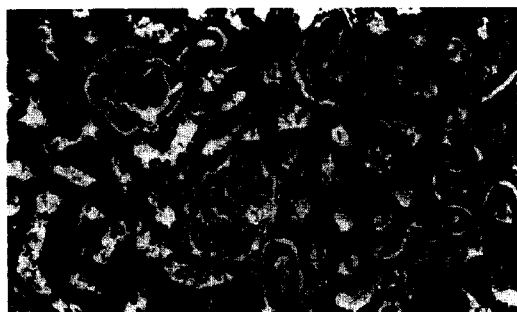
축적량은 니켈량이 19.8 mg/kg/day인 집단에서 보면 니켈만 투여시 폐에서 니켈 축적량은 10.41 mg/kg이었으나, 졸참나무 추출액 투여시 10.41 mg/kg으로 같은 수치를 보였다. 신장에서는 니켈만 투여시 9.36

Table 8. Effect of *Pine cone* on the accumulation of Ni_3S_2 in various organs of rats fed with Ni_3S_2

| Concentration (ppm) of Ni_3S_2 by dose and organs | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Group | 6.6 mg/kg/day | | | | 13.2 mg/kg/day | | | | 19.8 mg/kg/day | | | |
| | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow |
| Ni_3S_2 alone | 4.51 ± 1.62 | 3.57 ± 1.28 | 5.19 ± 2.11 | 9.60 ± 0.35 | 5.79 ± 1.48 | 4.20 ± 1.31 | 6.91 ± 1.15 | 11.25 ± 0.26 | 9.36 ± 2.94 | 7.19 ± 1.69 | 10.45 ± 2.16 | 13.38 ± 1.01 |
| Pine cone after Ni_3S_2 | 4.06 ± 0.81 | 2.84 ± 0.75 | 4.36 ± 2.02 | 8.29 ± 1.12 | 4.25 ± 0.83 | 3.62 ± 0.69 | 5.41 ± 0.99 | 10.41 ± 1.19 | 8.25 ± 1.16 | 6.69 ± 2.10 | 9.12 ± 0.79 | 12.02 ± 0.97 |
| Ni_3S_2 after pine cone | 3.91 ± 1.31 | 2.90 ± 0.47 | 4.70 ± 1.12 | 8.15 ± 0.49 | 4.61 ± 1.17 | 3.35 ± 0.81 | 5.62 ± 1.40 | 10.20 ± 0.83 | 8.29 ± 0.92 | 6.32 ± 1.05 | 9.35 ± 3.12 | 11.87 ± 3.15 |

Table 9. Effect of *Pine root* on the accumulation of Ni_3S_2 in various organs of rats fed with Ni_3S_2

| Concentration (ppm) of Ni_3S_2 by dose and organs | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Group | 6.6 mg/kg/day | | | | 13.2 mg/kg/day | | | | 19.8 mg/kg/day | | | |
| | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow | Kidney | liver | lung | bone marrow |
| Ni_3S_2 alone | 4.51 ± 1.62 | 3.57 ± 1.28 | 5.19 ± 2.11 | 9.60 ± 0.35 | 5.79 ± 1.48 | 4.20 ± 1.31 | 6.91 ± 1.15 | 11.25 ± 0.26 | 9.36 ± 2.94 | 7.19 ± 1.69 | 10.45 ± 2.16 | 13.38 ± 1.01 |
| Pine root after Ni_3S_2 | 4.35 ± 0.85 | 3.10 ± 0.76 | 4.72 ± 0.91 | 9.02 ± 1.16 | 5.03 ± 0.81 | 3.62 ± 0.71 | 5.82 ± 1.24 | 10.47 ± 0.91 | 8.42 ± 1.15 | 7.02 ± 0.61 | 9.31 ± 1.10 | 12.47 ± 0.94 |
| Ni_3S_2 after pine root | 4.34 ± 0.71 | 3.05 ± 0.96 | 4.81 ± 1.16 | 8.98 ± 1.02 | 5.12 ± 0.87 | 3.68 ± 0.24 | 5.80 ± 1.96 | 10.29 ± 2.41 | 8.60 ± 0.96 | 7.09 ± 1.16 | 9.27 ± 0.98 | 12.61 ± 1.96 |

**Fig. 1.** Photomicrograph of the kidney of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) × 200.**Fig. 2.** Photomicrograph of the liver of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) × 200.

mg/kg로 증가하는 등 졸참나무 잎 추출액 투여에 의한 흰쥐 조직내 니켈 해독은 기대하기 어렵다고 생각된다(Table 6). 또한 알로에 투여군에서도 알로에 추출액에 의한 흰쥐 조직내 니켈 해독은 기대할

수 없었다(Table 7).

솔방울 추출액 투여군의 흰쥐 조직내 니켈 축적량은 니켈 투여량이 6.6 mg/kg/day인 집단에서 보면 신장내 니켈 축적량이 4.51 mg/kg이었으나, 솔방울

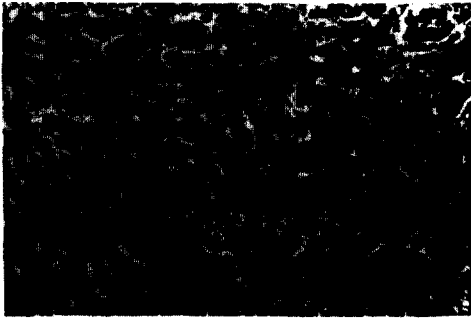


Fig. 3. Photomicrograph of the liver of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Lonicerae flos* ×200.

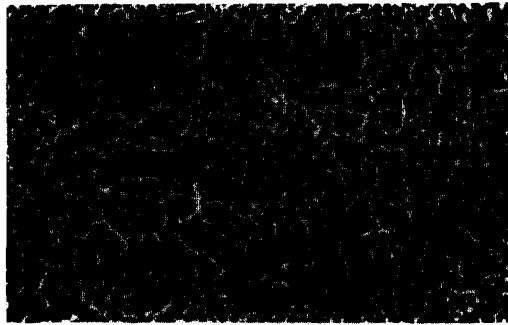


Fig. 4. Photomicrograph of the liver of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Thuja orientalis* L. ×200.

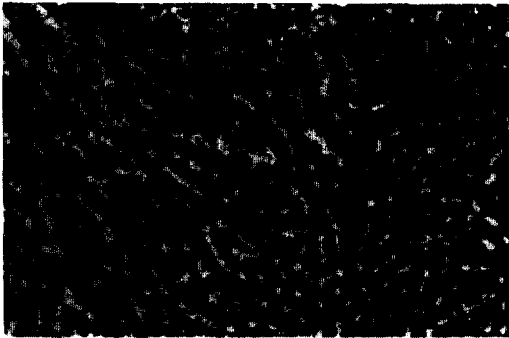


Fig. 5. Photomicrograph of the liver of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *leaf of acorn* ×200.

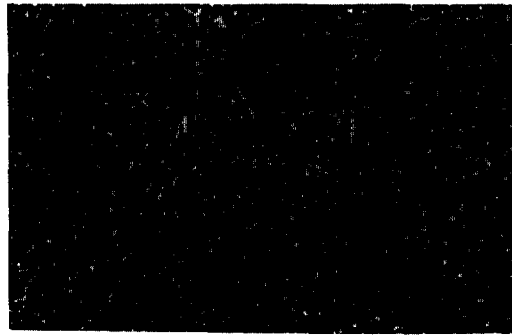


Fig. 6. Photomicrograph of the liver of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Aloe ferox mill* ×200.

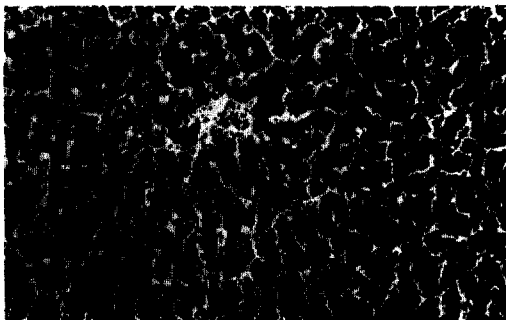


Fig. 7. Photomicrograph of the liver of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Pine root* ×200.

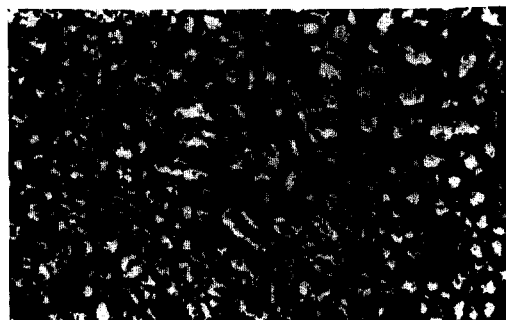


Fig. 8. Photomicrograph of the kidney of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Thuja orientalis* L. ×200.

추출액 투여 후 니켈 축적량은 3.91 mg/kg으로 신장내에 니켈 해독량을 기대할 수 있었다. 간장에서는

3.57 mg/kg에서 2.90 mg/kg으로 니켈 축적량 감소, 폐에서도 5.19 mg/kg에서 4.70 mg/kg으로 니켈 축

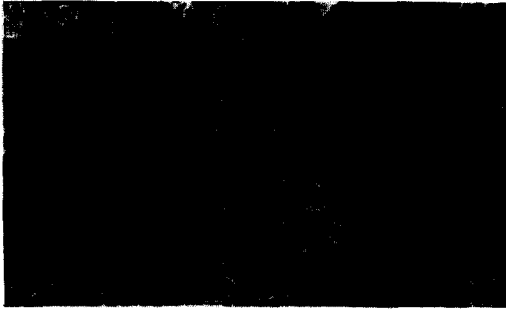


Fig. 9. Photomicrograph of the kidney of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Pine root* $\times 200$.



Fig. 10. Photomicrograph of the kidney of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Aloe ferox mill* $\times 200$.



Fig. 11. Photomicrograph of the kidney of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Pine cone* $\times 200$.

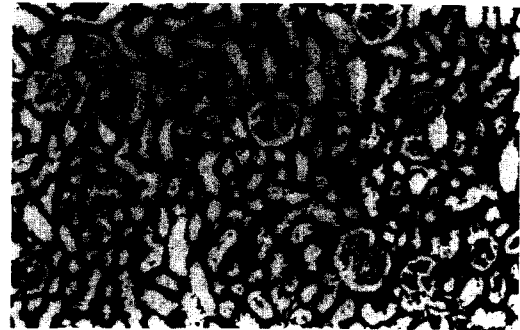


Fig. 12. Photomicrograph of the kidney of rat treated with nickel (19.8 mg/kg/day) and *Lonicerae flos* $\times 200$.

적량이 줄어드는 등 솔방울 추출액에 의한 흰쥐 조직내 니켈 해독을 기대할 수 있었다. 또한 니켈 투여량이 19.8 mg/kg/day인 집단에서 니켈만 투여시 신장, 간장, 폐에서 9.36 mg/kg, 7.19 mg/kg, 10.45 mg/kg 등 이었으나, 솔방울 추출액 투여 후 8.25 mg/kg, 6.69 mg/kg, 9.12 mg/kg으로 흰쥐 조직내 니켈 축적량이 감소하는 것을 볼 수 있었다(Table 8).

소나무 뿌리 추출액 투여군의 흰쥐 조직내 니켈 축적량은 Ni_3S_2 투여량이 13.2 mg/kg/day시 신장, 간장, 폐에서 5.79 mg/kg, 4.20 mg/kg, 6.91 mg/kg이 었으나, 소나무 뿌리 추출액 투여 후 니켈 투여시 5.12 mg/kg, 3.68 mg/kg, 5.80 mg/kg 등으로 나타나 소나무 뿌리 추출액에 의한 흰쥐 조직내 니켈 해독을 기대할 수 있었다(Table 9).

흰쥐의 신장 및 간장 조직을 광학현미경을 이용하여(배율 200) 관찰한 결과는 Fig. 1~12와 같다.

각 조직에서 니켈과 동시 투여된 자연산물의 종류에 따라 뚜렷한 조직상의 변화를 관찰할 수 있었다. 즉 신장조직 및 간장조직 공히 알로에(Aloe), 양금화(Lonicerae)가 투여된 군에서는 정상과 비슷한 조직상의 소견을 보였지만, 솔방울(Pine cone), 졸참나무 잎(Leaf of acorn), 소나무뿌리(Pine root), 측백나무(*Thuja orientalis*) 순으로 근위극 세뇨관의 위축 및 탈락, 혈관내 울혈 및 출혈, 보우만씨낭의 내엽과 외엽사이의 협착, Cooper cell의 다수 출혈, portal vein에 울혈 등 손상된 조직상의 소견을 보였다.

IV. 고 찰

니켈은 바나듐, 카드뮴, 크롬 등과 함께 공업 지역의 중요한 대기오염원의 하나로써 호흡기계에 위험한 금속 오염물질로 알려져 있다.²¹⁾ 산업장에서

니켈의 재련과정은 sodium sulfide나 전기분해과정을 이용하는 Oxford방법이나 nickel carbonyl을 이용하는 mond방법 등을 이용하고 있으며, 또한 전기도금, 산 내성물질 및 전도성물질의 제조, 수송장비, 축전지, 에나멜 도장제, 세라믹과 유리제조 그리고 지방 등의 수화에 촉매 등으로 널리 이용되고²⁾ 있다. 니켈이 역학적 및 실험적으로 건강 유해인자로 확인됨에 따라서 OSHA(Occupational Safety and Health Administration) 및 ACGIH(American Conference of Governmental Industrial Hygienists)에서는 작업장 공기 중 허용농도(TLV-TWA)를 1 mg/m³으로 정하고 있다.^{22, 23)} 또한 ACGIH(Notice of Intended Changes for 1991~1992)에서는 니켈의 독성이 점차 문제됨에 따라 금속니켈 뿐 아니라 불용성 니켈화합물(insoluble compounds)과 수용성 니켈화합물(soluble compound)에 가까워 확대하여 발암성물질(A1)로 정하고 있으며, 허용농도로 기중 0.05 mg/m³로 하향하여 고시하고 있다.²⁴⁾ 인체에 흡수된 니켈은 이온형태 혹은 알부민과 결합된 형태로 폐, 신장, 심장, 비장 그리고 골수 등에 흡수되어 세포의 핵과 미토콘드리아에 침착된다. 침착된 니켈은 세포의 DNA 분자에 작용하거나, glutathione-S-transferase²⁵⁻²⁷⁾와 phosphoglucomutase의 sulfhydryl 성분과 결합하여, 세포의 기능장애를 초래하거나 lipid peroxidation에 관여하여 독성을 유도한다고 알려져 있다.²⁸⁾

실험동물의 체중변화 및 생존율은 중금속에 아급성 혹은 만성 폭로시 개체의 형태적, 기능적 장애를 추정하는 독성 평가시 중요한 방법 중의 하나이다.

Ralph 등²⁹⁾은 니켈 투여시 투여량에 비례하여 실험동물의 체중이 감소됨을 보고하였고, Dieter 등³⁰⁾은 니켈 투여가 체중의 감소와 더불어 간장, 신장, 비장 그리고 흉선의 무게를 감소시킴을 보고하였다. 본 실험에서 니켈투여군의 평균체중의 변화는 투여농도에 따라서 변화가 있었지만 유의한 차이는 없었다. 니켈 6.6 mg/kg/day 투여후에 자연산물을 응용시킨 실험군의 유의한 체중의 증가현상과 니켈투여 전에 자연산물을 응용시킨 실험군의 체중감소나 변화가 없는 결과로 미루어, 자연산물 투여가 장기내에 축적된 니켈의 배출을 촉진하거나 선택적으로 니켈독성을 해독시켜 체중변화에 영향을 미쳤을 것으로 판단할 수 있다. 니켈 투여량 혹은 자연산물의 응용여부 및 응용시기에 따른 체중의 변화와 이에 관련이 있는 생존율에 미치는 정확한 관계를 규명하는데는 실험기간이 충분치 못하네 기인한 것으로 생각된다.

니켈은 metalloprotein 및 몇개의 효소 등에 필수요소로서 하루에 300~600 µg 정도 섭취되고, 배설은 대부분이 대변을 통하여 일부는 소변이나 땀에 의하여 배출된다. 니켈화합물은 일정 대사량보다 많이 신체에 흡수되면 여러 장기에 축적되어 독성을 나타내게 되는데, 이들 독성은 장기조직세포의 형태 및 기능적 특성, 니켈화합물은 수용성이나, 구조 즉 crystallic 혹은 amorphous 형태 등에 따라서 독성정도가 결정된다.³¹⁾ 니켈은 장기조직에서 세포막 전위차에 의하여 쉽게 세포내로 유입되어 세포핵과 미토콘드리아 주변에 침착하여 독성을 초래하는데, 일반적으로 다른 세포내 소기관이나 세포질에는 침착이 적은 것으로 알려져 있다. Mathur 등³²⁾은 nickel sulfate을 복강주사한 14일 후에 장기내 니켈 축적정도가 심장, 비장, 신장 그리고 골수와 기타 장기 순서로 높았다고 보고한 바 있지만, 본 실험에서는 골수, 폐, 신장 그리고 간장순서로 축적정도가 높았다. 이는 투여한 니켈의 종류와 용량 및 투여기간 등의 실험조건이 동일하지 않았음에 기인하리라 판단되지만, 니켈 화합물의 물리화학적 특성에 따라서 조직 친화성과 침착능에 차이가 있을 가능성도 배제하지 못할 것으로 생각된다. 본 연구에서는 니켈 투여수준이 19.8 mg/kg/day인 군에서 솔방울, 소나무 뿌리 추출액 응용을 병용시킨 경우 신장, 간장 그리고 폐에서 니켈 축적량을 상당히 감소시켰다. 그러나 솔방울 및 소나무 뿌리추출액의 어느 성분에서 의해서 흰쥐 장기내 니켈이 해독되었는지 알 수 없으며, 솔방울 및 소나무 뿌리 성분을 분리하여 니켈과 착물을 형성할 수 있는 ligand 역할을 할 수 있는 성분을 찾아서 그 효능을 규명할 필요성이 있다.

V. 결 론

측백나무(thuja orientalis), 알로에(aloe), 졸참나무잎(leaf of acorn), 솔방울(pine cone), 소나무 뿌리(pine root), 양금화(ionicerae) 추출액을 이용한 흰쥐의 조직내 니켈해독 실험의 결과 다음과 같은 결론을 얻게 되었다.

- ① 니켈 투여량에 의한 흰쥐의 생존율은 니켈의 투여량이 6.6 mg/kg/day인 집단에서 72.5%로 19.8 mg/kg/day인 집단에서의 60.2%보다 니켈 투여량이 증가할수록 흰쥐의 생존율은 감소하는 것으로 나타났으며, 니켈 투여 후 자연산물 투여에는 거의 영향을 받지 않은 것으로 나타났다.
- ② 흰쥐의 체중 증가율은 니켈 투여량이 6.6 mg/kg

/day인 집단에서 10.6%의 체중증가, 13.2 mg/kg/day인 집단과 19.8 mg/kg/day인 집단에서 2.3%의 체중증가와 6.1% 체중감소를 각각 볼 수 있었으며, 자연산물 추출액 전·후 투여에 의한 흰쥐의 체중변화는 볼 수 없었다.

- ③ 자연산물 추출액 전·후 투여에 의한 흰쥐 조직내 니켈 축적량의 변화는 소나무 뿌리, 소나무 잎, 양금화 추출액 투여군에서 조직내 니켈 축적량이 감소하는 경향을 보였으나, 알로에, 졸참나무 잎, 측백나무 잎 추출액 투여군에서는 축적량의 변화를 볼 수 없었다.
- ④ 광학현미경을 이용한 실험동물의 신장 및 간장 조직을 관찰한 결과, 알로에, 양금화가 투여된 군에서는 뚜렷한 조직상의 변화를 찾아볼 수 없었으나, 솔방울, 졸참나무 잎, 소나무 뿌리, 측백나무 잎이 투여된 군에서는 손상된 조직상의 소견을 보여 자연산물 중 양금화와 알로에에서 니켈의 해독을 기대할 수 있었다.

감사의 글

본 저자들은 실험기간 동안 헌신적인 노력과 자료정리에 도움을 주신 박경옥, 이정미 선생에게 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

- 1) WHO : Health hazards of the Human Environment. Geneva, WHO, 35-37, 1970.
- 2) ACGIH : Nickel compounds, documentation of the TLVs & BLIs, 5th edition. ACGIH Inc., 422-426, 1986.
- 3) Sunderman, F. W. Jr. : Recent research on nickel carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.*, **40**, 131-141, 1981.
- 4) Boysen, M., Waksvik, H., Solberg, L. A., Reith, A. and Hogetveit, A. C. : Histopathological follow-up studies and chromosome analysis in nickel workers. In Nickel Toxicology, eds. S. S. Brown and F. W. Sunderman, Jr. New York, Academic Press, 35038, 1983.
- 5) Stoner, G. D., Slimkin, M. B., Thomson, T. L., Allpass, P. R. and Terry, L. S. : Test for carcinogenicity of metallic compounds by the pulmonary tumor response in strain A mice. *Cancer Res.*, **36**, 1744-1747, 1976.
- 6) Sunderman, F. W. Jr., Kasprzak, K. S., Lau, T. J., Minghetti, P. P., Meanza, R. M., Becker, M., Onkelink, C. and Goldblatt, P. J. : Effects of manganese on carcinogenicity and metabolism of nickel subsulfide. *Cancer Res.*, **36**, 1790-1800, 1976.
- 7) Sunderman, F. W. Jr., Maenza, R. M., Hueper, S. M., Mitchell, J. M. and Allpass, P. R. : Damjection of nickel subsulfide. *J. Environ.*
- 8) Ciddareili, R. B., Hampton, T. H. and Jenette, K. W. : Nickel carbonate induces DNA-protein crosslinks and DNA strand breaks in rat kidney. *Cancer Cell.*, **12**, 349-354, 1987.
- 9) Robinson, S. H. and Costa, M. : The induction of DNA strand breakage by nickel compounds in cultured chinese hamster ovary cells. *Cancer Cell.*, **15**, 35-40, 1982.
- 10) Sen, P. and Costa, M. : Induction of chromosomal damage in chinese hamster ovary cells by soluble and particulate nickel compounds; preferential fragmentation of the heterochromatin long-arm of the X-chromosome by carcinogenic crystalline NiS particles. *Cancer Res.*, **45**, 2320-2325, 1985.
- 11) Sirovon, M. A. and Lobe, L. A. : Infidelity of DNA Synthesis *in vitro*; Screening for potential metal mutagens or carcinogens. *Science*, **194**, 1434-1436, 1976.
- 12) Vos, J. G. : Immune suppression as related to toxicity. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **5**, 67-101, 1977.
- 13) Koller, L. D. : Effects of environmental contaminants on the immune system. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, **23**, 267-295, 1979.
- 14) Treagan, L. and Frust, A. : Inhibition of interferon synthesis in mammalian cell cultures after nickel treatment. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **1**, 395-402, 1970.
- 15) Adkins, B. Jr., Richards, H. J. and Gargner, D. E. : Enhancement of experimental respiratory infection following nickel inhalation. *Environ. Res.*, **20**, 33-42, 1979.
- 16) Gainer, J. H. : Effect of heavy metals and/or of deficiency of Zinc on mortality rates in mice infected with encephalomyocarditis virus. *Amer. J. Vet. Res.*, **38**, 869-872, 1977.
- 17) Figoni, R. and Treagan, L. : Inhibition effect of nickel and chromium upon antibody response of rats immunization with T-1 phage. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **16**, 77-78, 1978.
- 18) Graham, J. A., Miller, J. J., Daniels, M. J., Payne, E. A. and Gardner, D. E. : Influence of cadmium nickel and chromium on primary immunity in

- mice. *Environ. Res.*, **16**, 77-78, 1978.
- 19) Graham, J. A., Gardner, D. E., Waters, M. D. and Coffin, D. J. : Effects of trace metals on phagocytosis by alveolar macrophage. *Infect. Immun.*, **11**, 1278-1283, 1975.
- 20) Smialowicz, R. J., Rogers, R. R., Riddle, M. M. and Statt, G. A. : Immunologic effects of nickel: I. Suppression of cellular and humoral immunity. *Environ. Res.*, **33**, 413-427, 1984.
- 21) Schroeder, H. A., Hannover, N. H. and Brattleboro, T. : A sensible look at air pollution by metals. *Arch. Environ. Health*, **21**, 798-806, 1970.
- 22) ACGIH : 1990~1991 Threshold Limit Values for Chemical Substances and Biological Exposure Indices. ACGIH Inc., 1990.
- 23) Benson, J. M., Burt, D. G. and Cheng, Y. S. : Biochemical responses of rat and mouse lung to inhaled nickel compounds. *Toxicology*, **57**, 255-266, 1989.
- 24) ACGIH : 1991~1992 Threshold limit values for chemical substance and biological exposure indices. ACGIH Inc., 1991.
- 25) IARC : Cadmium, nickel, some epoxides, miscellaneous industrial chemicals and general consideration of volatile anesthetics II. IRAC monogr. *Eval. Carcinog. Risk. Chem. Hum.*, **11**, 75-112, 1976.
- 26) Bencko, V. : Nickel A review of its occupational and environmental toxicity. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, **27**, 237-247, 1983.
- 27) Abbracchion, M. P., Simmons-Hansen, T. and Costata, M. : Cytoplasmic dissolution of phagocytized crystalline nickel sulfide particles; A prerequisite for nuclear uptake of nickel. *J. Toxicology Environmental Health*, **9**, 663-676, 1982b.
- 28) Dwivedi, P. P., Behari, J. R., Misra, M. and Srivastava, R. C. : Kinetics and dose dependence of glutathione, glutathione-s-transferase and phospho-glucomutase in liver and kidney of nickel treated partially hepatectomized rats. *Industrial Health*, **23**, 269-277, 1985.
- 29) Ralph, J., Smialowicz, Ronald R. Rogers, Marie, M. Riddle, Robert W. Luebke and Lela D. Fogelson : Effects of Manganese, Calcium, Magnesium and Zinc on Nickel-Induced Suppression of Murine Natural Killer Activity. *J. of Toxicology and Environ. Health*, **20**, 67-80, 1987.
- 30) Dieter, M. P., Jameson, C. W., Tucker, A. N., Luster, M. I., French, J. E., Hong, H. L. and Boorman, G. A. : Evaluation of tissue disposition myelopoietic and immunologic response in mice after long-term exposure to nickel sulfide in the drinking water. *J. of Toxicology and Environ. Health*, **24**, 357-372, 1988.
- 31) Jaramillo, A. and Sonnenfeld, G. : Effect of amorphous and crystalline nickel sulfide on induction of interferons- α/β and - γ and interleukin-2. *Environmental Research*, **48**, 275-286, 1989.
- 32) Mathur, A. K., Dikshith, J. S., Lai, M. M. and Tandon, S. K. : Distribution of Nickel and cytogenetic changes in poisoned rats. *Toxicology*, **10**, 105-113, 1978.