

흰쥐의 만성 카드뮴 中毒에 처한 食用버섯의 前處置效果

김 남 송

원광대학교 의과대학 예방의학교실

Effects of *Agaricus bisporus* Diet on Organs of Rats Chronically Exposed to Cadmium Chloride

Nam-Song Kim

Department of Preventive Medicine, School of Medicine, Wonkwang University

ABSTRACT

The concentrations of cadmium, metallothionein(MT), superoxide dismutase(SOD), and lactate dehydrogenase(LDH) were investigated in liver and kidney of rats which were fed the water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks.

Cadmium concentrations in liver and kidney increased during 16 weeks, and there were significantly higher accumulation of cadmium in the kidney than in the liver.

The concentrations of MTs in liver and kidney decreased linearly during 16 weeks, but there was no significant difference between control and experimental group. MT concentrations of liver were significantly higher than those of kidney.

The superoxide dismutase activities and lactate dehydrogenase activities were not affected by the diet, but there was a significant difference by the duration of administration.

These data indicate that the kidney is a major target organ of chronic cadmium poisoning, and suggest that Cd-induced hepatic injury, via release of Cd-MT, may play an important role in the nephrotoxicity.

In conclusion, induction of MT occurs in both the liver and the kidney after administration of CdCl₂. However, the kidney is less responsive than the liver to the induction of MT by cadmium, which may contribute to making the kidney the target organ of toxicity during chronic Cd exposure.

Keywords : Diet, Cadmium Chloride, metallothionein(MT), SOD, LDH.

I. 서 론

최근 급속한 산업의 발달과 더불어 사람이 카드뮴에 직업적으로 직접 폭로되는 것 이외에 생물학적 먹이사슬을 통한 생체내 유입 및 축적으로 다양한 독성과 중독사건을 일으켜 사회문제를 야기한 바 있다.¹⁾

카드뮴의 독성으로는 신기능장애, 간조직손상, 중추신경장애, 고혈압 및 골연화증 등을 유발하는 것으로 알려져 있으며,²⁾ 저농도로 장기간 노출시 고환조직의 손상에 따른 생식독작용과 주산기 및 수유기 독작용에 관련된다는 보고들^{3,4)}이 있으나 일반적으로 개체의 영양상태, 연령, 체내침입경로, 폭로

기간 및 카드뮴염의 형태 등에 따라 다양한 독성을 나타낸다.^{5,6)}

카드뮴의 세포독성 기전으로는 카드뮴 체내의 대사과정에 참여하는 여러 효소의 활성을 억제하거나 세포막을 구성하는 단백질중 중금속과 친화력이 높은 sulfhydryl(SH)기와 결합, 그 기능을 저해함으로써 발현된다고 알려져 있다.²⁾

한편 유해중금속에 대한 독성학적 방어기전으로는 중금속의 세포내 지질과산화반응(lipid peroxidation)으로 유리된 free oxygen radical의 공격에 대하여 superoxide dismutase(이하 SOD로 약함)를 합성하여 방어하거나,⁷⁾ 금속에 특이적으로 결합하는 물질들의 합성을 촉진함으로써 세포에 미치는 독성을

Table 1. Contents of trace elements in basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet(ppm/dry weight)

Metal	Cd	Cu	Fe	Mn	Pb	Se	Zn
Basal diet	0.02±0.01	0.13±0.04	24.15±3.63	0.15±0.04	0.09±0.02	0.04±0.01	2.37±0.43
5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	0.03±0.01	0.20±0.05	30.18±4.95	0.16±0.04	0.18±0.02	0.05±0.01	4.54±0.72

경감시키는 것으로 알려져 있는데,^{8,9)} 후자의 경우 분자크기가 다른 여러 카드뮴 결합물질로서는 metallothionein(이하 MT로 약함)이 알려져 있다.

Metallothionein(MT)은 cysteine을 다량 함유하고 중금속과 친화력이 높은 저분자량 복합단백질로 정상적으로는 조직에 미량 존재하나 스트레스, 기아(starvation), glucocorticoid투여 및 중금속 폭로등의 요인에 의해 합성이 증가하며, MT의 생물학적 기능으로는 중금속의 저장, 운반, 중금속독성에 대한 해독, 면역반응 및 필수 금속의 대사 등이 알려져 있다.^{10,12)}

따라서 유해중금속 독성에 대한 MT 및 SOD의 방어효과에 관하여 국내외적으로 비교적 많은 연구^{13,17)}가 활발히 진행되어 왔으며, 동시에 MT 생성물질에 대한 연구가 추후되고 있다.

MT 생성을 유도하기 위한 지금까지의 전처치는 소량의 카드뮴이나 아연을 피하주사를 통하여 반복 주사한 경우가 대부분으로,^{13,16,18)} 경구를 통하여 식품섭취로 전처치한 실험은 매우 부족한 실정이다. 또한 현재까지의 연구는 고농도의 중금속을 단기간에 걸쳐 피하 또는 복강투여함으로써 용량대 반응의 관계를 파악하는데 유용한 정보를 제공하였으나 중금속의 흡수, 대사 및 배설을 이해하는데는 미치지 못하므로 저농도의 중금속을 장기간에 걸쳐 경구투여할 필요가 있다.

양송이는 각종 무기질이 풍부한 식품으로 알려져 있으며,¹⁹⁾ 이중 아연은 인간을 포함한 동물의 성장 발육에 필수적 미량원소로서 생물발생 관여와 여러 효소들의 구성원소 및 조효소로 알려져 왔다.²⁰⁾ 이외에 아연은 호르몬의 합성, 핵산, 단백질 합성, 당 대사, 지방대사, 아미노산 및 콜라겐 대사작용에 관여하며 동물의 정상적인 성장, 번식 및 조직 보유와 상처 치유에 관여하고 있다.²¹⁾ 체내에서 아연과 다른 금속간의 상호작용은 카드뮴이 가장 밀접한 관계를 갖고 있으며 이때 아연은 카드뮴 독성을 경감시키는 길항작용과 역작용으로 카드뮴이 아연결핍증을 악화시키는 상승작용을 일으키는 것으로 알려져 있으나, 기능을 설명할 수 있는 작용 기전은 현재까지도 논란의 여지가 있다.^{21,22)}

이에 저자는 카드뮴독성에 대한 양송이의 전처치

효과를 알아보려고 양송이를 섭취시킨 흰쥐에서 카드뮴독성에 따른 간장과 신장내 카드뮴과 MT농도, superoxide dismutase(SOD) 및 lactate dehydrogenase(LDH) 생성변화를 16주까지 기간별로 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 재료

실험동물은 생후 8-10주된 체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷만을 사용하여, 실험시작 2 주전부터 온도와 습도를 적정상태로 유지하고 물과 사료를 자유로이 섭취할 수 있도록 하면서 환경에 적응시켰다.

실험군에 사용한 양송이식은 시중에서 구입한 양송이(*Agaricus bisporus*)를 분말로 만들고 사료와 혼합하여 5%가 되도록 조제하였으며, 경구용 카드뮴은 cadmium chloride($CdCl_2$, Sigma Chemical Co.)로써 수돗물에 용해시켜 100 ppm으로 제조하여 사용하였다.

정상 식이와 양송이 식이의 무기질 함량은 Table 1과 같다.

2. 실험방법

1) 식이 및 처치방법

대조군과 실험군으로 구분하여 대조군 20마리는 정상 식이와 100 ppm의 $CdCl_2$ 를 섭취케하고 실험군 20마리는 5% 양송이 식이와 100 ppm의 $CdCl_2$ 를 각각 16주간 섭취케하면서 4주, 8주, 12주, 16주째 각각 5마리씩 경부탈구로써 희생시키고 간장과 신장을 적출하였다. 적출한 조직의 일부를 카드뮴 농도, MT농도, SOD 및 LDH 활성도 측정에 사용하였다.

실험기간동안 1일 음용량은 정상쥐의 경우 31.1 ml/rat였으며, 카드뮴 음용량은 24.2 ml/rat였다.

한편, MT농도의 측정에 쓰일 hemolysate는 실험과 무관한 랫트를 흉강 절개하고 심장천자에 의해 채취한 혈액으로 제조하였다.

2) 조직내 중금속 농도측정

도살하여 적출한 간장 1g과 신장 0.5g 정도를

취하여 생리식염수로 세척한 후 질산-황산-과염소산으로 가열 분해시킨후 diethyl dithio carbamate-methyl isobutyl ketone(DDTC-MIBK)을 사용하여 chelate 화합물을 유출한다. 유출된 MIBK는 90 °C 열판위에서 휘산시킨 다음 0.1 N 염산용액을 가하여 최종 5 ml를 만들어서 측정용 시료로 사용하였다. 사용된 시약은 유해금속 측정용과 원자흡광 분석용이었으며 측정기는 원자흡수분광광도계(IL 551), 가스는 air-acetylene이었다.

3) 조직내 MT 농도측정

MT농도의 측정은 Onosaka 등(1978)²³⁾의 방법과 Eaton과 Toal(1982)²⁴⁾의 카드뮴 hemoglobin affinity법을 참고하여 다음과 같이 실시하였다.

적출한 간조직 1g과 신장조직 0.5g을 생리식염수로 세척한 후, 자당용액(sucrose)을 가하면서 homogenizer를 이용하여 균질화하고 18,000 G, 4°C에서 20분간 원심분리하여 상층의 세포액(cytosol)을 얻었다. 세포액 0.2 ml에 0.03 M Tris-HCl(pH 8.0)를 첨가하여 2.4 ml가 되게 한다음, 10 ppm의 CdCl₂ (standard solution) 1 ml로 포화시키고 실온에서 5분간 정치하였다. 여기에 RBC hemolysate 0.2 ml를 가하여 과량의 카드뮴과 MT 이외의 모든 bioligand를 제거하고 100°C water bath에 1분간 정치시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 5분간 원심분리(1,000 G)하여 상층액을 취하였다.

이상과 같은 hemolysate 첨가, 열처리 및 원심분리과정을 3회 반복하여 얻은 시료를 측정에 이용하고, 최종적인 MT농도계산은 카드뮴 6g 원자가 1M의 MT(분자량 6,050)와 결합하는 것으로 환산하여 mg/g의 농도로 표시하였다.

4) 조직내 superoxide dismutase(SOD) 측정

Crapo 등(1978)²⁵⁾의 방법에 따라 0.1 mM ferricytochrome c 100 µl, 0.5 mM xanthine 100 µl에 시료를 포함한 PBS(0.1 mM EDTA를 포함하고 있는

50 mM PBS, pH=7.8) 800 µl를 가하고, 여기에 xanthine oxidase(0.025 U/ml) 10 µl을 가하여 반응을 시켜 25°C, 550 nm에서 흡광도 변화율로 측정하고, 활성도는 SOD 표준곡선으로부터 구하였다.

5) 젖산탈수소효소활성치의 측정

젖산탈수소효소의 활성치는 pyruvate와 NADH가 효소에 의해 lactic acid와 NAD⁺를 생성하는 과정에서 NADH의 흡광량이 감소되는 원리를 이용하였다.

측정과정은 전기한 시료 0.1 ml를 phosphate buffer(0.1 M, pH 7.4) 2.5 ml와 NADH용액(200 µM) 0.2 ml를 혼합하여 37°C에서 5분간 정치한 후, 역시 같은 조건에 정치시켰던 pyruvate용액(0.6 mM) 0.2 ml를 첨가하고 340 nm의 파장에서 10분간에 걸친 흡광도의 변화를 기록, 최초 흡광도와 최종 흡광도의 차(ΔA)로부터 다음식으로 활성치를 계산하였다.

$$LDH \text{ activity} = \frac{\Delta A \times 1,000 \times 3.0}{10 \times 6.23 \times 0.2} = \Delta A \times 241(IU/L)$$

위 식에서 1,000은 상수, 3.0은 흡광도 측정에 쓰인 혼합액의 양, 10은 흡광도 측정시간(분), 6.23은 340 nm의 파장에서 NADH 1M의 흡광도이며, 0.2는 첨가된 NADH의 실제양이다.

III. 성 적

1. 조직내 카드뮴 농도

1) 간장중 카드뮴 농도

간장중 카드뮴 농도는 대조군과 실험군간에 유의한 차이는 없었으며 기간의 경과에 따라 4주째에 비하여 8주 및 12주째 감소하는 경향을 보이다가 16주째 대조군은 45.3±17.0 µg/g으로 증가, 실험군은 24.0±10.2 µg/g에 비하여 유의하게 높았다(p<0.05, Table 2).

Table 2. Cadmium levels in rat liver consuming water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks

Treatment ^b	Duration of administration ^{a*}			
	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Cadmium with basal diet	20.7±9.3 ^c	13.2±5.2	12.4±4.2	45.3±17.0
Cadmium with 5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	20.8±8.6	15.5±4.3	12.9±4.4	24.0±10.2

^a Mean±S.D.

Cadmium contents are expressed as µg/g wet tissue.

* Significant difference by the duration of administration, p<0.01.

^b There is a significant interaction between treatment and duration which are revealed by two-way ANOVA.

Table 3. Cadmium levels in rat kidney consuming water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks

Treatment ^b	Duration of administration ^{b*}			
	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Cadmium with basal diet	20.4 ± 3.1 ^a	20.1 ± 3.3	32.4 ± 2.1	100.6 ± 6.4
Cadmium with 5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	23.1 ± 5.2	22.0 ± 2.0	36.6 ± 3.1	60.2 ± 19.0

^a Mean ± S.D.

Cadmium contents are expressed as µg/g wet tissue.

* Significant difference by the duration of administration, p < 0.01.

^b There is a significant interaction between treatment and duration which are revealed by two-way ANOVA.**Table 4.** Metallothionein levels in rat liver consuming water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks

Treatment	Duration of administration [*]			
	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Cadmium with basal diet	4.02 ± 0.64 ^a	3.82 ± 0.58	2.46 ± 0.53	1.95 ± 0.27
Cadmium with 5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	4.92 ± 0.56	4.69 ± 0.53	3.64 ± 0.29	2.42 ± 0.24

^a Mean ± S.D.

Metallothionein concentrations are expressed as mg/g wet tissue.

* Significant difference by the duration of administration, p < 0.01.

Table 5. Metallothionein levels in rat kidney consuming water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks

Treatment	Duration of administration [*]			
	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Cadmium with basal diet	0.86 ± 0.13 ^a	0.77 ± 0.18	0.34 ± 0.05	0.25 ± 0.06
Cadmium with 5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	0.87 ± 0.15	0.82 ± 0.17	0.73 ± 0.09	0.38 ± 0.12

^a Mean ± S.D.

Metallothionein concentrations are expressed as mg/g wet tissue.

* Significant difference by the duration of administration, p < 0.01.

2) 신장중 카드뮴 농도

신장중 카드뮴 농도는 4주째 대조군은 20.4 ± 3.1 µg/g, 실험군은 23.1 ± 5.2 µg/g으로 두군간에 유의한 차이는 없었으나 기간의 경과에 따라 유의하게 증가하여 16주째 대조군은 100.6 ± 6.4 µg/g, 실험군은 60.2 ± 19.0 µg/g으로 최고 농도를 보였고 대조군에 비하여 실험군에서 유의하게 낮았다(p < 0.05, Table 3).

2. 조직내 metallothionein 농도

1) 간장중 metallothionein(MT)농도

대조군과 실험군간에 유의한 차이는 없었으며 4

주째 대조군은 4.02 ± 0.64 mg/g, 실험군은 4.92 ± 0.56 mg/g의 농도에서 기간의 경과에 따라 16주째 대조군 1.95 ± 0.27 mg/g, 실험군 2.42 ± 0.24 mg/g의 농도로 유의하게 감소하는 경향을 보였다(p < 0.05, Table 4).

2) 신장중 metallothionein(MT)농도

신장중 MT농도는 4주째 대조군 0.86 ± 0.13 mg/g, 실험군 0.87 ± 0.15 mg/g의 농도를 보였고 기간의 경과에 따라 유의하게 감소하여(p < 0.05) 16주째 대조군 0.25 ± 0.06 mg/g, 실험군 0.38 ± 0.12 mg/g의 농도를 보였다. 그러나 대조군과 실험군간에 유의한

차이는 없었다(Table 5).

3. 기간의 경과에 따른 조직내 농도 변화

조직내 카드뮴 농도는 대조군 및 실험군 공히

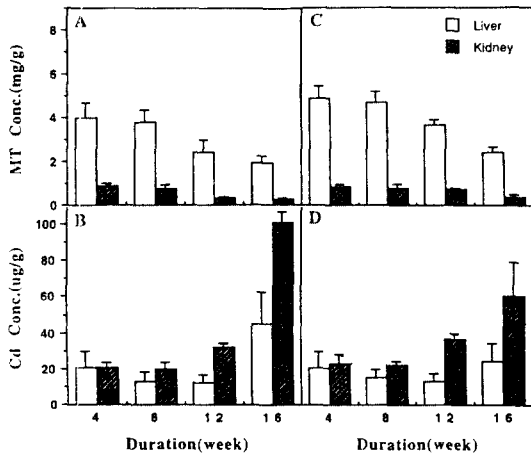


Fig. 1. Cadmium and metallothionein concentrations in liver and kidney tissues of rats intaking water containing 100 ppm of cadmium chloride with the basal diet (A and B) and 5% *Agaricus bisporus* diet (C and D) during 16 weeks.

기간의 경과에 따라 증가하는 경향을 보였고, 16주째 대조군의 경우, 간장중 카드뮴 농도 $45.3 \pm 17.0 \mu\text{g/g}$ 에 비하여 신장중 카드뮴 농도 $100.6 \pm 6.4 \mu\text{g/g}$ 으로 유의하게 높았고($p < 0.05$), 실험군의 경우 역시 간장중 카드뮴농도 $24.0 \pm 10.2 \mu\text{g/g}$ 에 비하여 신장중 카드뮴 농도 $60.2 \pm 19.0 \mu\text{g/g}$ 으로 유의하게 높았다 ($p < 0.05$).

조직내 MT농도는 대조군 및 실험군 공히 기간의 경과에 따라 유의하게 감소하였고($p < 0.05$) 신장중 MT농도에 비하여 간장중 MT농도가 유의하게 높았다($p < 0.05$, Fig. 2).

4. 조직내 SOD 활성도

조직내 superoxide dismutase(SOD) 활성도는 간장과 신장에서 공히 기간의 경과에 따라 유의한 차이를 보였으나($p < 0.05$) 대조군과 실험군간의 차이는 없었다(Table 6, 7).

5. 조직내 LDH 활성도

조직내 lactate dehydrogenase(LDH) 활성도는 간장의 경우 기간의 경과에 따라 유의하게 감소하는 경향을 보였으나($p < 0.05$) 대조군과 실험군간에 유의한 차이는 없었으며(Table 8), 신장의 경우 기간의 경과에 따라 또한 대조군과 실험군간에 유의한 차

Table 6. The change of superoxide dismutase(SOD) in rat liver consuming water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks

Treatment	Duration of administration*			
	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Cadmium with basal diet	44.3 ± 5.8^a	35.7 ± 7.2	40.5 ± 5.5	41.7 ± 4.1
Cadmium with 5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	41.7 ± 5.0	35.0 ± 6.6	37.9 ± 5.4	45.7 ± 6.5

^a Mean \pm S.D.

The values of SOD activity are expressed as unit/mg protein.

* Significant difference by the duration of administration, $p < 0.05$.

Table 7. The change of superoxide dismutase(SOD) in rat kidney consuming water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks

Treatment	Duration of administration*			
	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Cadmium with basal diet	44.0 ± 3.2^a	38.0 ± 9.2	36.7 ± 4.8	34.6 ± 3.4
Cadmium with 5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	38.6 ± 4.9	37.2 ± 5.7	36.0 ± 4.4	30.0 ± 2.7

^a Mean \pm S.D.

The values of SOD activity are expressed as unit/mg protein.

* Significant difference by the duration of administration, $p < 0.05$.

Table 8. The change of lactate dehydrogenase(LDH) in rat liver consuming water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks

Treatment	Duration of administration*			
	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Cadmium with basal diet	94.6± 19.9 ^a	77.4± 4.7	74.4± 7.4	61.9± 7.5
Cadmium with 5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	82.8± 17.8	79.6± 15.3	78.1± 6.3	67.5± 5.8

^a Mean± S.D.

The values of LDH activity are expressed as unit/mg protein.

* Significant difference by the duration of administration, p<0.05.

Table 9. The change of lactate dehydrogenase(LDH) in rat kidney consuming water containing 100 ppm cadmium chloride with basal diet and 5% *Agaricus bisporus* diet during 16 weeks

Treatment	Duration of administration*			
	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Cadmium with basal diet	36.4± 3.4 ^a	34.1± 3.1	35.4± 4.6	36.7± 8.7
Cadmium with 5% <i>Agaricus bisporus</i> diet	40.6± 3.4	39.5± 7.6	35.6± 3.5	38.4± 3.9

^a Mean± S.D.

The values of LDH activity are expressed as unit/mg protein.

이를 보이지 않았다(Table 9).

IV. 고 찰

카드뮴은 생체내 유해 중금속으로 과거 일본에서 발생한 Itai-Itai병(1963)은 하천, 토양 및 지하수의 카드뮴오염에 의한 중독으로 확인됨으로써 세계적인 경각심을 불러일으킨 바 있다.^{2,20,26)}

카드뮴은 대기, 토양, 물 및 식품에 다양한 화학물로 존재하며 직업적 폭로를 제외하면 일반인에 대한 폭로는 주로 식품과 흡연을 통한 경우가 많다.^{1,27)} 이러한 환경내의 카드뮴이 생물체의 조직으로 흡수, 축적되는 양상은 카드뮴에 의한 특정 장기의 기능손상 및 병리조직학적 변화와 관련이 있으므로 독성기전의 연구에 앞서 깊은 관심을 불러 일으킨다.

카드뮴의 세포독성 기전으로는 카드뮴이 체내의 대사과정에 참여하는 여러 효소의 활성을 억제하거나 세포막을 구성하는 단백질중 중금속과 친화력이 높은 sulfhydryl(SH)기와 결합, 그 기능을 저해함으로써 발현된다고 알려져 있다.²⁾

유해중금속에 대한 독성학적 방어기전중 하나는 금속에 특이적으로 결합하는 물질들의 합성을 촉진함으로써 세포에 미치는 독성을 경감시키는 metallothionein(이하 MT로 약함)이 잘 알려져 있다.^{8,9)}

Metallothionein(MT)는 61개의 amino acid로 구성되어 있고 이중 20개가 cysteine이며 금속 7g atom과 결합되어 있는 저분자량 금속결합 단백질(metalloprotein)이다.¹⁰⁾ MT는 보통 three-metal cluster와 four-metal cluster로 존재하는데, three-metal cluster는 주로 Zn²⁺와 Cu¹⁺의 조절과 대사에 관여하고 four-metal cluster는 Cd²⁺을 포함한 유해중금속을 sequester하는 것으로 알려져 있으며,²⁰⁾ 동시에 2가 중금속은 MT를 생성하는 가장 강력한 작인이며 이외에도 스트레스, 기아, glucocorticoid 투여 등의 약제가 MT를 유도한다.^{11,12)}

카드뮴에 대한 MT의 방어기전은 cysteine이 풍부한 MT가 카드뮴과 결합함으로써 카드뮴을 무독화시키며, 카드뮴의 세포내 분포에 있어서도 핵, 사립체(mitochondria), 리보솜, 핵막, 세포막 및 세포질내 고분자단백질 등의 중요한 세포소기관에 잔류하기 보다는 Cd-MT 형태로써 세포질에 잔류함으로써 방어효과가 있는 것으로 알려져 있다.²⁹⁾

본 연구결과에서는 음료를 통한 카드뮴의 섭취 후 조직내 카드뮴은 16주까지 기간의 경과에 따라 지속적으로 축적되었고 간장보다는 신장에서 더욱 현저하였다. 그러나 조직내 MT농도는 기간의 경과에 따라 지속적으로 감소하였으며 식이군간에 차이는 없었으나 신장보다는 간장에서 유의하게 높았다.

이상의 결과는 양송이 식이가 대조군에 비하여 MT생성이나 조직내 카드뮴농도 감소에 대하여 유의한 효과는 없지만 기간의 경과에 따라 대조군 및 실험군 공히 간장보다는 신장에서 더 높은 축적이 일어나며, 조직내 MT농도는 감소하는 양상으로 보아 MT의 효과는 실험기간의 초기에 국한되는 것으로 예측되며 카드뮴 독성은 간장에서 신장으로 표적장기의 변화가 일어남을 알수있어 Dudley 등의 연구결과와 일치하고 있다.

Dudley 등(1985)¹⁴⁾은 CdCl₂ 0.5 mg/kg을 랫트에 26주 동안 피하주사하여 조직내 카드뮴 축적 및 MT의 농도를 조사하고 투여기간에 따른 표적장기의 변화를 관찰한 바, 간장과 신장내 카드뮴 및 MT농도는 지속적으로 증가하여 10~12주째 최고농도에 이른 다음, 완만한 증가를 보이고 조직학적으로는 신장 손상의 소견에 앞서 간장 손상의 소견이 있었다고 보고 하였다. 그리고 노출기간의 증가에 따라 간에서 신장으로의 표적장기 변화가 있었는데 이는 간에서 생성된 MT가 카드뮴과 결합하여 Cd-MT 복합체를 형성하고 혈액을 통하여 신장의 노세관에 침착한 다음, Cd-MT 복합체가 다시 용해소체에 의해 분해되어 이때 방출된 카드뮴이온에 의해 신장조직이 손상을 받는다고 설명하고 있다. 따라서 생성된 MT가 조직의 중금속 독성을 경감시키는데 결정적인 역할을 담당함과 동시에 각 조직별로 MT생성능력에 따라 방어정도의 차이를 보이고 표적장기가 변화됨을 알 수 있다.

또한 Sendelbach와 Klaassen(1988)⁶⁾은 카드뮴의 형태에 따른 MT생성량의 차이를 보고하였는데, 이러한 차이는 주로 간장에 존재하는 카드뮴에 의해 생성되는 MT의 양에 비하여 주로 신장에 분포하는 카드뮴에 의해 생성될 수 있는 MT의 양이 현저하게 적고 신장에서 용해소체에 의해 분해된 카드뮴 이온이 매우 적은 양의 MT를 생성하기 때문에 만성 카드뮴 중독의 경우 신장이 급성중독의 경우 간장이 표적장기가 된다는 것이다.

젖산탈수소효소는 심장질환을 비롯한 몇몇 특정 질환에서 그 활성치가 극적으로 변하기 때문에 임상진단에 필요한 정보를 제공하나,³⁰⁾ 기타 비특이적 세포손상의 경우에도 그 활성치가 상승하며,³¹⁾ 카드뮴 중독에 의해서도 그 활성치가 변화됨이 보고되고 있다.⁷⁾

李(1985)³²⁾ 및 黃 등(1989)³³⁾은 조직내 젖산탈수소효소의 활성변화가 중금속 투여기간과 농도를 잘 반영한다고 하였으나, 본 실험에서는 투여시간이 경과함에 따라 효소활성치가 감소하였으며, 이는

특히 카드뮴독성의 대표적 표적장기인 간장과 신장에서 공통적으로 관찰되었다. 이러한 사실로 미루어 카드뮴 투여기간의 장단에 따라 젖산탈수소효소의 활성치에 변화가 일어나고, 적어도 저농도 만성중독의 경우에는 조직손상정도와 젖산탈수소효소의 활성치변화는 일치하지 않는 결과로 나타날수 있다는 점을 추측케 한다.

수은 이외에 구리, 아연 및 카드뮴 등의 중금속을 과량투여한 경우 배양세포나 실험동물의 장기에서 황산화효소의 불활성화(inactivation)나 lipid peroxidation의 증가로 인한 세포손상이 관찰되며, 이들 반응의 초기에 O₂, H₂O₂와 같은 free radical이 관여하여 반응후 생성된 malondialdehyde등의 물질이 강한 세포독성을 나타내는 것으로 보고되어 있는데(Kappus와 Sies, 1981), 이는 결과적으로 DNA나신구조의 손상, 단백질 thiol기의 산화 및 황산화효소의 활성변화 등과 관련된다고 한다.^{34,35)} 따라서 카드뮴의 생체에 대한 독성 발현과정에 있어서도 O₂, OH 등의 free radical과 과산화반응에 의해 세포내 누적되는 H₂O₂, hydroperoxide, superoxide 등의 생성에 관여하는 황산화효소의 활성변화가 관찰될 수 있다는 개연성이 있다.

V. 결 론

흰쥐의 만성 카드뮴중독에 대한 양송이의 전처리 효과를 알아보고자 정상식이와 100 ppm의 카드뮴을 섭취한 대조군과 양송이식이와 100 ppm의 카드뮴을 섭취한 실험군에서 16주까지 기간별 간장과 조직내 카드뮴농도, MT농도, SOD 및 LDH활성도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 간장과 신장중 카드뮴 농도는 기간의 경과에 따라 간장에서는 12주까지 감소하는 경향을 보이다가 16주째 유의하게 증가하였으며(p<0.05), 신장에서는 유의하게 증가하여(p<0.05) 16주째 최고 농도를 보였다(100.6±6.4 µg/g).

2. 양송이 식이군의 카드뮴 농도는 간장보다는 신장에서 유의하게 높은 축적 농도를 보였으며(p<0.05), 정상 식이군에 비하여 유의하게 낮지는 않았다. 투여기간과 식이군간에는 상호작용이 있는 것으로 나타났다.

3. 간장과 신장중 metallothionein농도는 기간의 경과에 따라 유의하게 감소하였으며, 식이군간에 차이는 없었으나 신장에 비하여 간장에서 유의하게 높았다(p<0.05).

4. 간장과 신장중 SOD 및 LDH 활성도는 신장중

LDH를 제외하고는 시간의 경과에 따라 유의한 차이를 보였다. 그러나 간장과 신장간에, 또한 식이군간에 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과에서 양송이식이가 정상식이군에 비하여 카드뮴농도를 유의하게 감소시키지는 않았지만 간장에서 생성된 많은 양의 metallothionein이 1차적으로 카드뮴을 sequestration시키고 이 결과 형성된 Cd-MT 복합체가 혈행을 따라 신장으로 이동, 용해소체 분해(lysosomal degradation)에 의하여 free cadmium ion으로 분리되고 신장에 축적되어 손상을 일으키는 것으로 추측된다. 그러나 카드뮴에 의한 독성과 이에 대한 식용버섯의 방어효과는 조직학적 관찰이 추가되어야 가능할 것으로 사료된다.

참고문헌

- 1) Fassett, D. W. : Metal in the environment. New York, Academic press., 1980.
- 2) Goyer, R. A. Toxic effects of metals. In; Amdur, M. O., Klassen D. J.(eds), Casarett and Koull's Toxicology. 4th ed., Pergamon press, Inc., New York, 1991.
- 3) Lucis, O. J., Lynk M. E. and Lucis, R. : Turnover of cadmium 109 in rats. *Arch. Environ. Health*, **18**, 307, 1969.
- 4) Nishizumi, M. : Electron microscopic study of cadmium nephrotoxicity in the rat. *Arch. Environ. Health*, **24**, 215, 1972.
- 5) Cherian, M. G. : Induction of renal metallothionein synthesis by parenteral cadmium-thionein in rats. *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 1163, 1978.
- 6) Sendelbach, L. E. and Klaassen, C. D. : Kidney synthesizes less metallothionein than liver in response to cadmium chloride and cadmium metallothionein. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **92**, 95, 1988.
- 7) Chung, K., Romero, N., Tinker, D., Keen C. L., Amemiya, K. and Rucker, R. : Role of copper in the regulation and accumulation of superoxide dismutase and metallothionein in rat liver. *J. Nutr.*, **118**, 859-864, 1988.
- 8) Squibb, K. S. and Cousins, R. J. : Control of cadmium binding protein synthesis in rat liver. *Environ. Physiol. Biochem.*, **4**, 220, 1974.
- 9) Probst, G. S., Bousquet, W. F. and Miya, T. S. : Kinetics of cadmium-induced hepatic and renal metallothionein synthesis in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **39**, 51, 1977.
- 10) Cherian, M. G. and Goyer, R. A. : Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Sci.*, **23**, 1, 1979.
- 11) Onosaka S., Tanaka, K. and Cherian, M. G. : Effects of cadmium and zinc on tissue levels of metallothionein. *Environ. Health Perspect*, **54**, 67, 1984.
- 12) Maitani, T., Watabiki, A. and Suzuki, K. T. : Induction of metallothionein after lead administration by three injection routes in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **83**, 211, 1986.
- 13) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Zinc-induced tolerance to cadmium hepato-toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 299, 1984a.
- 14) Dudley, R. E. Gammal, L. M. and Klaassen, C. D. : Cadmium-induced hepatic cadmium metallothionein in nephrotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **77**, 414, 1985.
- 15) 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.
- 16) 김남송, 이재형, 고대하, 기노식, 황인담 : Cadmium에 의한 흰쥐의 간장 및 신장의 Metallothionein 변화와 방어효과. *대한예방의학회지*, **24**(3), 287-302, 1991.
- 17) 민경준, 박정덕, 홍연표, 장임원 : 카드뮴 급성폭로에 의한 MT생성과 독성작용. *대한예방의학회지*, **26**(2), 231, 1993.
- 18) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Tolerance to cadmium induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 308, 1984b.
- 19) 허유행, 김옥경 : 식용버섯류의 무기불함량. *환경위생학회지*, **17**(1), 129-135, 1991.
- 20) Hammond, P. B. and Foulkes, E. C. : Metal ion toxicity in man and animals. In Siegel H(ed.), Metal ions in biological systems. Vol. 20, Marcel Dekker, New York., 1986.
- 21) Lewis, G. D. : Cadmium accumulation in man. *J. Chron. Dis.*, **25**, 717, 1972.
- 22) Waldron, H. A. : Metal in the environment. London, Academic Press, 1980.
- 23) Onosaoka S., Tanaka K., Doi M. and Odahara K. : A simplified procedure for determination of metallothionein in animal tissues. *Eisei. Kagaku.*, **24**, 128, 1978.
- 24) Eaton, D. L. and Toal, B. F. : Evaluation of the Cd/hemoglobin affinity assay for the rapid deter-

- mination of metallothionein in biological tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **66**, 134, 1982.
- 25) Crapo, J. D., McCord, J. M., Fridovich I : Preparation and assay of superoxide dismutase. In Fleischer S and Packer L(eds.), *Methods in Enzymology* volume LIII, Biomembranes Part D: Biological Oxidants Mitochondrial and Microbial System. Academic Press, New York, **53**, 382, 1978.
- 26) Agarwal, A. K. : Metabolic alterations in liver and testes of adult and new born rats following cadmium administration. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **40**, 569, 1988.
- 27) 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.
- 28) Hunt, C. T., Boulanger, Y., Fesik S. W. and Armitage, I. M. : NMR analysis of the structure and metal sequestering properties of metallothioneins. *Environ. Health perspectives*, **54**, 135-143, 1984.
- 29) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Altered sub-cellular distribution of cadmium following cadmium pretreatment: Possible mechanism of tolerance to cadmium-induced lethality. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **70**, 195, 1983.
- 30) Hagadorn, J. E., Bloor, C. M. and Yang, M. S. : Elevated plasma activity of lactate dehydrogenase isoenzyme-3(LDH-3) in experimentally induced immunologic lung injury. *Am. J. Pathol.*, **64**, 575, 1971.
- 31) Jackim, E., Hamlin, J.M. and Sonis, S. : Effects of metal poisoning on five liver enzymes in the killifish(*Fundulus heteroclitus*). *J. Fish Res Bd Canada*, **27**, 383, 1970.
- 32) 이준구 : 배기의 장기내 LDH isozyme과 단백질에 미치는 급성수은중독의 영향에 관한 연구. 한국육수학회지, **18**, 73, 1985.
- 33) 황인담, 기노석, 고대하, 이재동, 이정상, 심운택 : 어류의 장기내에 축적된 mercury chloride가 lactate dehydrogenase isozyme 활성도에 미치는 영향. 대한보건협회지, **15**, 3, 1989.
- 34) Misra, M, Rodriguez, R. E. and Kasprzak, K. S. : Nickel induced lipid peroxidation in the rat; correlation with nickel effect in antioxidant defense systems. *Toxicology*, **64**, 1, 1990.
- 35) Ochi, T. : Effects of an organic hydroperoxidase on the activity of antioxidant enzymes in cultured mammalian cells. *Toxicology*, **61**, 229, 1990.