

식이 단백질과 Cysteine수준이 흰쥐의 Cadmium중독에 미치는 영향

김 미 경 · 박 주 연

이화여자대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Protein and Cysteine Levels on Cadmium Toxicity in Rats

Kim, Mi Kyung · Park, Ju Yeon

Department of Foods & Nutrition, Ewha Womans University, Seoul, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of dietary protein and cysteine levels on cadmium toxicity in rats. Seventy-two male rats of Sprague-Dawley strain weighing $171 \pm 3g$ were blocked into 12 groups according to body weight, and were raised for 30 days. Cadmium chloride was given at levels of 0 or 400ppm, protein at levels of 7, 15 and 40%, and cysteine was added (total dietary cysteine contents : 0.45%) to diet or not. The results are summarized as follow. Food intake, weight gain, food efficiency ratio, liver and kidney weights, femur weight and length of cadmium added group were lower than those of cadmium free group. But, these were increased with increasing dietary protein level and cysteine addition. Fecal cadmium excretion was remarkably increased in high protein(40%) groups. Thus, cadmium retention rates were decreased in high protein groups. Metallothionein concentrations in liver and kidney were increased in cysteine addition, and cadmium administration. Especially, these were remarkably increased in cadmium and cysteine added groups. Urinary calcium excretion was increased with cadmium administration, but urinary protein excretion and creatinine clearance were not changed in these animal. In conclusion, food intake, weight gain and organ weights were decreased with cadmium administration. Cadmium toxicity was alleviated by increasing dietary protein level and cysteine addition. High protein diet decreased cadmium retention by increasing fecal cadmium excretion, while cysteine addition increased metallothionein concentrations in liver and kidney. From these results, it was shown that cadmium toxicity was alleviated by synergistic effect of high protein level and cysteine addition. (*Korean J Nutrition* 29(5) : 461~471, 1996)

KEY WORDS : cadmium toxicity · cysteine · protein · metallothionein.

서 론

환경오염 문제가 대두된 이후 cadmium(Cd)은 인체에 가장 해로운 공해물질의 하나로 인식되어 왔다¹⁾. Cd이 인체에 유입되는 주된 경로는 호흡기와 소화기이며 그 표적기관(target organ)은 폐와 신장이다. 즉, 호흡기 채택일 : 1996년 4월 30일

로 유입된 Cd은 폐에서 괴사 및 암을 유발한다는 역학 조사 결과가 보고되어 있고²⁾ 소화기로부터 흡수된 Cd은 결과적으로 신장에 축적되어 신장기능이상 및 형태학적 변화를 유발한다고 한다³⁾. 최근 Cd의 공업적 사용이 줄고 있어서 호흡기로 유입되는 Cd의 양은 감소되더라도 오랜 기간 축적된 토양의 Cd은 인체의 소화기를 통해 유입되므로 식이를 통한 Cd중독 가능성은 여전히 클 것으로 생각된다¹⁾. 우리나라의 전국적인 Cd섭취량에 대한

보고는 아직 없으나 1980~1990년사이의 지역별 Cd섭취실태에 의하면 일인당 평균 55~84ug/day로 보고되고 있다⁴⁾. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives에서 허용한 범위가 57~71ug/day⁵⁾을 고려해 볼때 우리나라의 Cd섭취량이 허용범위에 도달하고 있어 경계해야 할 단계에 진입했다고 볼 수 있다.

Metallothionein(MT)은 Cd과 결합하여 조직내 free ion상태의 Cd를 감소시킨다고 알려져 있다. Free Cd ion은 체중감소, 빈혈, 간과 신장조직등의 형태학적 변화, 골연화증, 골다공증, 신장기능 이상, 중추신경계 이상과 내분비계 장애 등을 일으키므로⁶⁾ MT의 생성은 Cd의 해독에 매우 중요하다고 생각된다. MT는 분자량이 6000~7000이고 cysteine이 풍부한(33%) 저분자량 단백질로 7개의 metal binding site를 가져서 여러 금속이온의 대사를 조절하고 중금속의 독성을 완화시키며, 면역반응에도 관련되어 tissue damage를 막는 free radical scavenger로서 작용한다고 한다^{7,8)}. MT합성은 여러 금속 이온과 steroid hormone들, 그리고 cytokine에 의해 유도되는데 금속이온에 의해 유도되는 MT합성량이 더 많은 것으로 알려지고 있다²⁾.

구강으로 섭취되는 Cd중독은 식이 인자에 의한 영향을 많이 받는데, 영양 인자로는 식이내 단백질, calcium(Ca), zinc(Zn), 섬유소 등⁹⁻¹³⁾이 있다. 권오란과 김미경⁹⁾의 보고에 따르면 식이내 단백질 수준이 높을수록 간, 신장, 소장세포에서 조직내 MT합성량이 증가하였고, Cd흡수가 감소되어 Cd으로 인한 독성이 완화되었다고 한다. 한편, Revis와 Osborne¹⁴⁾은 저단백식이(5.5%)에 cysteine(Cys)을 보충(0.04%)하여 주었더니 고단백식이(66.5%)를 공급한 경우와 비슷한 MT생산효과를 나타내었다고 하였다. Cys은 황 함유 아미노산으로 MT의 구성성분¹⁵⁾으로서 Cd과 결합하여 세포내의 Cd을 격리시키고 소장에서의 Cd흡수를 감소시켜 Cd의 독성을 완화시킬 수 있으리라 생각된다.

본 연구에서는 선행된 연구⁹⁾에서 나타난 식이 단백질의 Cd중독 완화효과가 단백질의 절대량에 의한 것인지 MT의 주요구성성분인 Cys함량에 의한 것인지를 규명하고자 단백질과 Cys수준을 달리 공급하고 장기내 Cd농도와 간, 신장, 소장의 MT농도, 그리고 Cd중독의 지표인 신장기능을 측정함으로써 이들 식이인자의 Cd제독 효과를 알아보려 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육 및 식이

이유후 4주(평균체중 : 171±2.7g)된 Sprague-Daw-

ley종 수컷 흰쥐 72마리를 실험 시작전 1주간 고행식으로 적응시킨 뒤 체중에 따라 난괴법(Randomized Complete Block Design)에 의하여 6마리씩 12군으로 나누어 식이내 Cd(0, 400ppm), 단백질(7, 15, 40%) Cys(0.03, 0.06, 0.16, 0.45%)수준을 달리한 식이로 30일간 사육하였다.

실험동물은 한마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였으며 물과 식이는 제한없이 먹게 하였다. 실험에 사용된 cage, 식이그릇, 물병 등의 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 0.4% EDTA(Ethylene Diamine Tetra Acetic acid)용액으로 세척한 후 탈이온 증류수로 행구어 사용하였다.

실험 식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수전분(corn starch, 풍진)을, 지방급원으로는 옥수수유(corn oil, 제일제당)를 사용하였으며 단백질 급원으로는 casein(Murray Goulburn Co-operative Co., Australia)을 사용하였고, 무기질과 비타민은 시약급을 이용하였다.

Cd은 식이에 cadmium chloride(CdCl₂, Showa Chemical, Japan)를 혼합하여 공급하였으며 Cd수준은 배계현¹¹⁾의 실험에서 실험동물을 4주간 사육시 동물이 사망하지 않고 중독현상을 보였던 식이무게의 0.04%인 400ppm으로 정하였다.

Cysteine(Cys)은 L-cysteine(Showa Chemical, Japan)을 식이에 혼합하여 공급하였고 식이로의 첨가수준은 성장기 흰쥐의 황 함유 아미노산 권장량¹⁶⁾이 식이무게의 0.6%라는 것과 본 식이에 들어있는 casein의 Cys 함량이 0.4%임을 고려하여, 저단백 -Cys첨가군의 황 함유 아미노산 총량이 권장량 수준인 0.6%가 되도록 Cys을 0.42% 첨가하였다. 중,고단백 -Cys첨가군의 Cys첨가량은 저단백 -Cys첨가군의 식이내 총 Cys함량(0.45%)과 같도록 각각 0.39%, 0.29%를 첨가하였다.

본 실험에서 사용한 실험 식이의 구성 성분은 Table 1과 같다.

모든 실험 동물의 식이 섭취량은 매주 3회 일정한 시간에 측정하였다. 체중은 일주일에 한번 일정한 시간에 측정하였고, 식이 섭취량과 체중을 이용하여 실험 전 기간의 체중증가량을 같은 기간에 섭취한 식이량으로 나누어 식이효율(food efficiency ratio, F.E.R.)을 산출하였다.

2. 시료 수집 및 분석

1) 시료의 채취

Cd 보유율 측정을 위해 실험 종료전 6일동안 10,000ppm의 Cd용액 0.2ml를 하루에 한번 일정한 시각에

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredient	Groups ⁶⁾											
	N L O	N L C	N M O	N M C	N H O	N H C	Cd L O	Cd L C	Cd M O	Cd M C	Cd H O	Cd H C
corn starch(g)	783.14	778.94	703.14	699.24	453.14	450.24	782.74	778.54	702.74	698.84	452.74	449.84
casein(g)	70	70	150	150	400	400	70	70	150	150	400	400
L-cysteine(g)	-	4.2	-	3.9	-	2.9	-	4.2	-	3.9	-	2.9
corn oil(g)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
CdCl ₂ (g)	-	-	-	-	-	-	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
salt mixture ¹⁾ (g)	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Vit A,D mixture ²⁾ (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vit E,K mixture ³⁾ (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
water soluble vitamin ⁴⁾ (mg)	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86
VitB ₁₂ ⁵⁾ (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Total sulfur amino acid(g)	2.1	6.3	4.5	8.4	12.0	14.9	2.1	6.3	4.5	8.4	12.0	14.9
Total cysteine(g) ⁷⁾	0.3	4.5	0.6	4.5	1.6	4.5	0.3	4.5	0.6	4.5	1.6	4.5

- 1) Salt mixture(g/diet) : Calcium phosphate dibasic 20, Sodium chloride 2.96, Potassium citrate monohydrate 8.8, Potassium sulfate 2.08, Magnesium oxide 0.96, Manganous carbonate 0.14, Ferric citrate 6H₂O 0.24, Zinc carbonate 0.064, Cupric carbonate 0.012, Potassium carbonate 0.0004, Sodium selenite 0.0004, Chromium potassium sulfate 0.0002, Sucrose, finely powdered to make 40g
- 2) Vit A,D mixture(mg/ml corn oil) : Vit A 0.1, Vit D 0.01
- 3) Vit E,K mixture(mg/ml corn oil) : α -Tocopherol acetate 25, Menadione 1
- 4) Water soluble mixture(mg/Kg diet) : Choline chloride 2000, Thiamine hydrochloride 10, Riboflavin 20, Nicotinic acid 120, Pyridoxine 10, Calcium pantothenate 100, Biotin 0.05, Folic acid 4, Inositol 500, Para-Aminobenzoic acid 100
- 5) Vit B₁₂(mg/ml distilled water) : Vit B₁₂ 0.01
- 6) NLO : none Cd + low protein(7%) + none cysteine
 NLC : none Cd + low protein(7%) + cysteine added(4.2%)
 NMO : none Cd + medium protein(15%) + none cysteine
 NMC : none Cd + medium protein(15%) + cysteine added(3.9%)
 NHO : none Cd + high protein(40%) + none cysteine
 NHC : none Cd + high protein(40%) + cysteine added(2.9%)
 CdLO : Cd added(400ppm) + low protein(7%) + none cysteine
 CdLC : Cd added(400ppm) + low protein(7%) + cysteine added(4.2%)
 CdMO : Cd added(400ppm) + medium protein(15%) + none cysteine
 CdMC : Cd added(400ppm) + medium protein(15%) + cysteine added(3.9%)
 CdHO : Cd added(400ppm) + high protein(40%) + none cysteine
 CdHC : Cd added(400ppm) + high protein(40%) + cysteine added(2.9%)
- 7) Total cysteine level in diet = added cysteine level + cysteine level in casein

tube feeding하였고 실험동물을 희생하기 5일전에 대사장(metabolic cage)에서 48시간 동안 뇨와 변을 채취하였다. 또한 tube feeding으로 인한 stress를 고려하여 Cd 비공급군에게도 동량의 탈 이온 증류수를 tube feeding하였다. Cd 보유율은 1일 Cd경구 투여량과 1일 뇨와 변의 Cd배설량을 이용하여 계산하였다. 채취한 뇨는 100ml가 되도록 탈 이온 증류수로 희석하여 7,000rpm에서 10분간 원심분리시켜 상층액만을 냉동보관하여 분석에 이용하였다. 변은 젖은 상태로 냉동보관하였다가 분석에 이용하였다.

실험기간이 끝난 후 12시간 동안 굶긴 동물을 ethyl ether로 마취시켜서 단두에 의해 희생시키고 혈액을 채취하였다. 혈액의 일부는 heparin처리를 한 시험관에 받아 냉동보관하였고, 나머지는 실온에서 30분이상 방치시켰다가 2,000rpm에서 30분간 원심분리시켜 혈청을

얻어 분석시까지 냉동보관하였다.

혈액 채취 즉시 실험 동물을 해부하여 간, 신장, 소장, 대퇴골을 떼어내어 무게를 측정하였다. 간, 신장, 소장의 경우 MT측정을 위해 절반은 -70℃의 deep freezer에 보관하고 나머지는 Cd측정을 위해 -20℃의 냉동고에 보관하였으며, 대퇴골도 Cd측정을 위해 -20℃의 냉동고에 보관하였다.

2) 생화학적 분석

혈액과 뇨의 Cd 농도는 Zinterhofer법¹⁷⁾으로, 그리고 간, 신장, 소장, 대퇴골, 변의 Cd 농도는 Yeager법¹⁸⁾에 의하여 AAS(atomic absorption spectrophotometer, Perkin-Elmer CO, Model 2380)로 농도를 측정하였다.

간, 신장, 소장의 MT농도는 Cadmium/hemoglobin

affinity assay방법¹⁹⁻²¹⁾을 이용하여 측정하였다.

노중 단백질 배설량은 Lowry 방법²²⁾을 이용하였고 노중 Ca 배설량²³⁾은 일정량의 뇨를 0.5% La₂O₃ solution으로 희석시켜 AAS로 422.7nm에서 흡광도를 측정하여 농도를 정량하였다. 그리고 casein공급으로 인해 각 식이의 Ca함량이 다르기 때문에 식이로 섭취된 Ca양을 구하여, 일일 Ca섭취량에 대한 노 Ca배설량으로 보정하였다.

노의 creatinine 배설량은 Folin의 방법²⁴⁾에 의해, 혈청의 creatinine 농도는 Folin and Wu의 방법²⁵⁾을 이용하여 spectrophotometer(spectronic 301, Milton-roy)로 520nm에서 비색정량하였으며 이로부터 creatinine clearance(Glomerular filtration rate, GFR, ml/min)를 계산하였다.

3. 통계 처리

본 연구의 모든 실험결과는 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였고 각 실험군당 평균치의 비교는 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후, $\alpha=0.05$ 수준에서 Scheffé의 다중비교(multiple comparison test)를 하였다. 또한 각 실험인자 (A : 식이 Cd수준, B : 식이 단백질수준, C : 식이 Cys수준)의 영향과 이들의 상호작용 (AB : Cd×단백질, AC : Cd×Cys, BC : 단백질×Cys, ABC : Cd×단백×Cys)에 의한 영향은 $\alpha=0.05$ 수준에서 삼원배치 분산분석(three-way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다²⁶⁾.

실험 결과

1. 식이 섭취량과 체중 변화 및 식이 효율

Table 2에 의하면 식이 섭취량은 식이내 Cd과 단백질 수준의 영향을 받아 Cd 공급군에서 그리고 저단백군에서 낮게 나타났고, Cd공급시 Cys이 첨가된 군의 식이 섭취량이 Cys비첨가군에 비해 높게 나타났다.

체중 증가량은 Cd 공급군의 체중증가량이 낮았고 단백질 수준이 낮거나, Cys을 첨가하지 않은 군에서 낮은 경향을 보였다. 그리고 Cd공급군들에서 Cys 수준에 따른 차이가 더 커서 특히 Cd 공급군중 저단백 -Cys비첨가군(CdLO)은 체중이 감소되어 음의 수치를 보였으나 저단백 -Cys첨가군(CdLC)에서는 음의 수치가 나타나지 않았다. Cd공급군중 Cys을 첨가한 중,고단백군(CdMC, CdHC)의 체중증가량이 Cd을 공급하지 않은 저단백군(NLO, NLC)보다 높게 나타났다.

식이 효율(F.E.R.)은 Cd을 공급한 군에서 낮았고, 단백질 수준이 높을수록, 그리고 Cys을 첨가한 군에서 높게 나타났다. 특히 Cd공급군들에서 Cys수준에 따른 차이가 Cd비공급군들에 비해 더 크게 나타났다.

Table 2. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio

Groups	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/30days)	F.E.R.
NLO	¹⁾ 15.80±0.81 ^{abc2)}	37.93± 5.94 ^{de}	0.07±0.01 ^{bc}
NLC	17.67±1.91 ^{ab}	69.51± 7.56 ^{dc}	0.13±0.01 ^{abc}
NMO	17.35±0.61 ^{abc}	111.58±14.45 ^{abc}	0.20±0.02 ^{ab}
NMC	18.64±0.50 ^{ab}	138.58± 9.69 ^{ab}	0.23±0.01 ^a
NHO	20.83±1.66 ^a	161.64±12.82 ^a	0.26±0.03 ^a
NHC	18.27±1.44 ^{ab}	145.19± 9.27 ^a	0.26±0.02 ^a
CdLO	9.73±0.89 ^c	-37.25± 7.86 ^f	-0.13±0.03 ^d
CdLC	12.56±1.79 ^{bc}	2.01±11.22 ^{ef}	-0.02±0.04 ^{cd}
CdMO	11.89±0.88 ^{bc}	22.05± 8.79 ^{def}	0.06±0.03 ^{bc}
CdMC	14.57±1.28 ^{abc}	63.29± 3.42 ^{cde}	0.14±0.01 ^{ab}
CdHO	13.35±0.90 ^{abc}	30.46± 6.17 ^{de}	0.08±0.02 ^{bc}
CdHC	14.79±0.75 ^{abc}	79.50±11.19 ^{bcd}	0.17±0.03 ^{ab}
Significant factor ³⁾	A, B	A, B, C, AC	A, B, C, AC

1) Mean±S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA.

A : Cd effect was significant at $\alpha=0.05$.

B : Protein effect was significant at $\alpha=0.05$.

C : Cysteine effect was significant at $\alpha=0.05$.

AB : Effect of cadmium×protein was significant at $\alpha=0.05$.

AC : Effect of cadmium×cysteine was significant at $\alpha=0.05$.

BC : Effect of protein×cysteine was significant at $\alpha=0.05$.

ABC : Effect of cadmium×protein×cysteine was significant at $\alpha=0.05$.

2. 장기무게

동물의 희생직후 측정된 간, 신장, 소장의 젖은 무게와 대퇴골의 젖은 무게와 길이 및 회분 함량은 Table 3과 같았다.

간의 무게는 식이내 Cd과 단백질, 그리고 Cys 수준의 영향을 받아 Cd 공급으로 감소하였고 저단백군, 그리고 Cys 비첨가군에서 낮게 나타났으며 신장의 좌우 총무게는 Cd 공급군에서 감소하였고 단백질 수준이 낮은 군에서, 그리고 Cys을 첨가하지 않은 군에서 낮게 나타났다. 소장의 무게는 식이내 Cd과 단백질, Cys 수준, 식이 Cd과 단백질의 상호작용의 영향을 받아 Cd 공급군에서 비교적 높은 수치를 보였고, 고단백군과 Cys을 첨가한 군에서 높은 경향을 나타냈다.

대퇴골의 젖은 무게와 회분 함량은 세가지 실험인자의 영향을 받아 Cd 공급군이 비공급군에 비하여 낮았고 식이 단백질 수준이 낮을수록, 그리고 Cys을 첨가하지 않은 군에서 낮았다. 대퇴골의 길이는 식이내 Cd과 단백질, Cys 수준, 식이내 Cd과 Cys의 상호작용의 영향으

로 Cd를 공급한 군에서 낮았고 저단백군에서 낮았으며 Cys를 첨가하지 않은 군에서 낮게 나타났다. 그러므로 Cd공급군에서 고단백 -Cys첨가군의 대퇴골의 무게 및 길이가 식이 단백질과 Cys의 영향으로 가장 큰 것으로 나타났다.

3. 혈액, 간, 신장, 소장, 대퇴골의 Cd 농도

혈액 등 각 조직의 Cd 농도는 Table 4에 수록하였다.

혈액과 간의 Cd농도는 같은 경향을 보여 Cd공급으로 유의적으로 증가하였고 Cd 공급군중 Cys를 첨가한 군의 함량이 높았고 단백질 수준에 의한 차이는 보이지 않았다. 그리고 신장의 Cd농도는 Cd공급으로 유의적으로 증가하였고 Cd공급군에서 식이단백질 수준이 낮고, 그리고 Cys첨가군에서 높게 나타나 저단백 -Cys첨가군 (CdLC)에서 가장 높은 결과를 보였다. 소장의 Cd농도는 Cd공급군중 고단백군에서 유의적으로 높은 수치를 보였으나, Cys에 의한 차이는 보이지 않았다. 대퇴골의 Cd농도는 식이내 Cd과 단백질 수준의 영향을 받아 Cd공급군들중 저단백군들에서 높았고, Cys에 의한 차이는 보이지 않았다.

4. 뇨, 변중의 Cd 배설량과 Cd 보유율

모든 실험 동물이 tube feeding에 의해 동량의 Cd를 공급받는 동안 채취한 뇨와 변중의 Cd배설량은 Table 5에 수록하였다.

뇨를 통한 Cd배설량은 식이내 Cd과 Cys수준의 영향을 받아 Cd 공급군들중 Cys를 첨가한 군에서 배설량이 많았다. 그러나 단백질 수준에 따른 차이는 뚜렷하지 않았다. 변을 통한 Cd배설량은 Cd공급으로 현저하게 증가하였고 Cd공급군들 중에서 고단백군의 배설량이 많았다. 한편, Cys첨가로 인해 저단백, 중단백군에서는 변으

로의 배설량이 증가했으나 고단백군에서는 Cys첨가로 배설량이 저하되어 Cys공급으로 인한 효과는 일정한 경향을 보이지 않았다. Cd 보유율은 식이 단백질 수준의 영향으로 단백질 수준이 높을 수록 낮은 경향을 보였고 Cys첨가시 저단백, 중단백군에서는 보유율이 감소되었으나 고단백군에서는 Cys첨가로 보유율이 증가하는 경향을 보였다. 그러나 실험군간에 유의적인 차이는 나지 않았다.

5. 간, 신장, 소장의 MT 농도

Metallothionein은 정상 조건에서는 매우 낮은 농도로 존재하다가 Cd 등에 의해 합성이 촉진되어 여러 장기에서의 함량이 높아진다는 보고⁷⁻⁹⁾¹⁴⁾가 있으며 그 주요 구성 아미노산은 Cys으로 알려져 있다¹⁵⁾. 실험 결과 얻어진 간, 신장, 소장의 MT농도는 Table 6에 제시하였다.

간과 신장의 MT농도는 Cd를 공급한 군들에서 유의적으로 높은 수준을 나타내었고 특히 Cd를 공급한 군들에서 Cys수준에 따른 차이가 뚜렷하여 Cys첨가군이 Cys를 첨가하지 않은 군보다 현저하게 높은 수치를 보였다. 반면 소장의 MT농도는 Cd공급군중 고단백군 (CdHO, CdHC)과 중단백 -Cys첨가군(CdMC)에서 높은 경향을 보였으나 모든 실험군간에 유의적인 차이는 보이지 않았다. Cd 비공급군들의 경우는 식이요인에 의해 유의적인 차이는 나지 않았지만 세 장기 모두 Cys를 공급한 군에서 MT의 함량이 높게 나타났다.

6. 신장 기능(뇨중 단백질 배설량, 뇨 Ca배설량, 사구체 여과율)

식이 섭취를 통한 만성적인 Cd 중독시 체내에서 가장 큰 손상을 받는 기관은 신장이며 이로 인한 신장기능 이상 이 보고³⁾⁷⁾⁸⁾되고 있기 때문에 Cd 중독의 지표로 뇨중

Table 3. Organ weights.

Groups	Liver		Kidney		Small intestine		Femur	
	Wet wt.(g)		Wet wt.(g)		Wet wt.(g)		Wet wt.(g)	
N L O	6.20±0.30 ^{bc2)}	1.42±0.07 ^{edf}	2.19±0.18 ^b	0.61±0.03 ^{ab}	0.21±0.01 ^{abcd}	3.28±0.04 ^{abcd}		
N L C	8.49±0.73 ^{ab}	1.64±0.15 ^{cdef}	2.97±0.15 ^{ab}	0.66±0.04 ^{ab}	0.24±0.01 ^{abc}	3.45±0.05 ^{abc}		
N M O	8.42±0.43 ^{ab}	1.82±0.10 ^{bcde}	2.87±0.25 ^{ab}	0.69±0.03 ^{ab}	0.24±0.01 ^{abc}	3.42±0.05 ^{abcd}		
N M C	9.02±0.53 ^{ab}	2.27±0.08 ^{abc}	3.46±0.28 ^{ab}	0.74±0.03 ^a	0.27±0.01 ^{ab}	3.50±0.04 ^{ab}		
N H O	10.27±1.01 ^a	2.67±0.08 ^{abc}	2.79±0.23 ^{ab}	0.77±0.04 ^a	0.30±0.01 ^a	3.58±0.04 ^a		
N H C	9.83±0.91 ^{ab}	2.43±0.13 ^{ab}	2.86±0.30 ^{ab}	0.78±0.03 ^a	0.28±0.02 ^{ab}	3.50±0.03 ^{ab}		
Cd L O	4.19±0.41 ^c	1.07±0.06 ^f	2.61±0.24 ^{ab}	0.49±0.04 ^b	0.13±0.01 ^d	2.88±0.04 ^e		
Cd L C	6.18±0.68 ^{bc}	1.34±0.12 ^{ef}	2.80±0.25 ^{ab}	0.59±0.05 ^{ab}	0.17±0.01 ^{cd}	3.16±0.06 ^{cde}		
Cd M O	6.37±0.41 ^{bc}	1.50±0.07 ^{def}	2.53±0.07 ^{ab}	0.61±0.04 ^{ab}	0.18±0.01 ^{cd}	3.10±0.06 ^{de}		
Cd M C	7.22±0.27 ^{abc}	1.66±0.08 ^{cdef}	3.57±0.19 ^{ab}	0.65±0.05 ^{ab}	0.19±0.02 ^{bcd}	3.23±0.10 ^{bcd}		
Cd H O	7.27±0.27 ^{abc}	1.82±0.04 ^{bcd}	3.49±0.17 ^{ab}	0.59±0.05 ^{ab}	0.19±0.01 ^{cd}	3.13±0.03 ^{cde}		
Cd H C	8.54±0.48 ^{ab}	2.07±0.12 ^{abcd}	3.83±0.25 ^a	0.72±0.02 ^{ab}	0.20±0.01 ^{bcd}	3.32±0.04 ^{abcd}		
Significant factor ³⁾	A, B, C	A, B, C, ABC	A, B, C, AB	A, B, C	A, B, C	A, B, C, AC		

1) Mean±S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Scheffé test.

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2).

Table 4. Cadmium concentrations in blood, liver, kidney, intestine, femur.

Groups	Whole blood (ug/100ml)	Liver (ug/g wet wt.)	Kidney (ug/g wet wt.)	Small intestine (ug/g wet wt.)	Femur (ug/g wet wt.)
N L O	¹⁾ 3.11±1.78 ^{c2)}	0.95±0.57 ^d	1.01±0.56 ^d	0.39±0.07 ^{ab}	0.54±0.10 ^{ab}
N L C	3.11±1.15 ^c	0.48±0.18 ^d	0.18±0.04 ^d	0.46±0.25 ^b	0.58±0.13 ^{ab}
N M O	2.48±1.84 ^c	0.90±0.41 ^d	0.42±0.16 ^d	0.19±0.05 ^b	0.28±0.05 ^b
N M C	2.49±1.24 ^c	0.76±0.12 ^d	0.42±0.26 ^d	0.34±0.14 ^b	0.50±0.11 ^{ab}
N H O	4.34±1.77 ^c	1.08±1.03 ^d	0.11±0.05 ^d	0.47±0.07 ^b	0.46±0.07 ^{ab}
N H C	1.24±0.79 ^c	0.67±0.34 ^d	0.15±0.03 ^d	0.23±0.02 ^b	0.51±0.07 ^{ab}
Cd L O	14.23±2.85 ^c	30.78±1.23 ^c	40.86±4.54 ^{abc}	4.29±1.00 ^{ab}	4.53±2.11 ^a
Cd L C	28.45±3.60 ^{ab}	53.37±5.34 ^a	59.98±4.11 ^a	5.83±0.51 ^{ab}	2.91±0.29 ^{ab}
Cd M O	16.42±3.00 ^{abc}	44.32±4.60 ^{abc}	33.59±2.36 ^c	4.15±0.53 ^{ab}	0.78±0.13 ^{ab}
Cd M C	32.72±5.13 ^a	52.23±3.11 ^{ab}	59.15±8.66 ^{ab}	5.19±0.52 ^{ab}	2.44±0.26 ^{ab}
Cd H O	16.42±3.00 ^{abc}	36.97±2.43 ^{bc}	30.95±3.31 ^c	7.59±1.25 ^a	2.34±0.11 ^{ab}
Cd H C	27.03±2.62 ^{ab}	47.37±1.66 ^{ab}	38.00±2.05 ^{bc}	9.09±2.58 ^a	2.41±0.08 ^{ab}
Significant factor ³⁾	A, C, AC	A, C, AC	A, B, C, AB, AC	A, B, AB	A, B

- 1) Mean±S.E.
- 2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.
- 3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2).

Table 5. Urinary and fecal excretion of cadmium and cadmium retention ratio.

Groups	Urine (ug/day)	Feces (ug/day)	Cadmium retention ratio(%)
N L O	¹⁾ 0.10±0.04 ^{c2)}	1.72±0.75 ^c	-
N L C	0.05±0.02 ^c	10.72±7.10 ^c	-
N M O	0.34±0.11 ^{bc}	26.23±3.72 ^{bc}	-
N M C	0.42±0.19 ^{bc}	2.94±2.58 ^c	-
N H O	0.30±0.10 ^{bc}	35.31±11.25 ^{bc}	-
N H C	0.62±0.46 ^{bc}	1.31±0.46 ^c	-
Cd L O	6.90±1.83 ^{abc}	391.02±119.76 ^{abc}	80.10±5.98 ^{N.S.3)}
Cd L C	12.80±3.46 ^{ab}	472.44±160.80 ^{abc}	75.74±8.03
Cd M O	6.62±1.43 ^{abc}	283.44±64.75 ^{bc}	85.50±3.26
Cd M C	17.34±4.43 ^a	927.26±253.00 ^{ab}	57.77±12.69
Cd H O	11.96±1.98 ^{abc}	1229.17±273.09 ^a	37.94±13.69
Cd H C	16.54±1.61 ^a	847.64±217.50 ^{abc}	56.79±10.91
Significant factor ⁴⁾	A, C, AC	A, B, AB, AC, ABC	B, BC

- 1) Mean±S.E.
- 2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.
- 3) Not significant at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.
- 4) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2).

Table 6. Metallothionein concentrations in liver, kidney and intestine.

Groups	Liver (ug/g wet wt.)	Kidney (ug/g wet wt.)	Intestine (ug/g wet wt.)
N L O	¹⁾ 8.46±1.07 ^{d2)}	14.00±1.59 ^f	5.98±0.77 ^{N.S.3)}
N L C	16.11±3.06 ^d	24.28±4.29 ^f	6.62±0.76
N M O	6.23±1.34 ^d	8.02±1.39 ^f	3.97±0.71
N M C	21.29±1.74 ^d	26.86±1.62 ^f	6.33±0.48
N H O	11.25±1.67 ^d	18.68±2.40 ^f	6.79±0.77
N H C	18.84±1.39 ^d	33.61±2.58 ^{ef}	9.19±1.19
Cd L O	79.99±8.48 ^{cd}	93.44±5.15 ^{bcd}	9.75±2.79
Cd L C	183.19±22.99 ^b	143.38±10.76 ^a	6.77±0.72
Cd M O	122.23±17.20 ^{bc}	67.27±6.07 ^{de}	5.30±0.60
Cd M C	342.63±21.89 ^a	117.64±7.65 ^{ab}	12.38±2.10
Cd H O	119.59±10.94 ^{bc}	74.92±5.52 ^{cd}	13.48±2.28
Cd H C	334.44±12.27 ^a	102.39±6.13 ^{bc}	10.65±1.45
Significant factor ⁴⁾	A, B, C, AB, AC, BC, ABC	A, B, C, AB, AC	A, B, BC, ABC

- 1) Mean±S.E.
- 2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.
- 3) Not significant at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.
- 4) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2).

단백질 배설량, 뇨 Ca배설량, 사구체 여과율(creatinine clearance)을 측정하였다. 그 결과는 Table 7과 Table 8에서 제시하였다.

뇨중 단백질 배설량의 경우 Cd공급으로 인한 차이는 보이지 않았고 고단백군에서 그리고 Cys첨가군에서 높은 경향을 보였다. 뇨중 Ca배설량은 Cd공급군에서 비교적 높은 경향을 보였으며 고단백군에서 그리고 Cys첨가군의 배설량이 높게 나타났고 Ca섭취량으로 보정한 뇨중 Ca배설량은 식이내 Cd과 단백질 수준의 영향을

받아 Cd공급군과 고단백군에서 높은 수치를 나타냈다. 그리고 저단백, 중단백군에서는 Cys첨가로 인해 뇨 Ca배설량이 증가되지 않았으나 고단백군에서는 증가하는 것으로 나타났다.

뇨 creatinine배설량은 식이 단백질 수준이 높을수록, 그리고 Cys를 첨가한 군에서 높은 수치를 보였고 혈청 creatinine량은 식이 단백질 수준의 영향으로 단백질 수준이 높을 수록 수치가 컸으나 군간에 유의적인 차이는 보이지 않았다. 사구체 여과율(creatinine clearance,

Table 7. Urinary protein and calcium excretions

Groups	Urinary protein (mg/day)	Urinary calcium (ug/day)	Corrected urinary calcium(ug/mg) ⁴⁾
N L O	¹⁾ 0.37±0.07 ^{2cd}	232.92± 24.35 ^b	3.15±0.30 ^b
N L C	0.53±0.19 ^{bcd}	235.83± 25.31 ^b	3.15±0.58 ^b
N M O	0.60±0.17 ^{bcd}	316.07± 82.34 ^b	3.82±0.80 ^b
N M C	1.33±0.10 ^{abcd}	222.50± 36.77 ^b	2.60±0.43 ^b
N H O	1.63±0.33 ^{ab}	374.17± 82.34 ^b	4.05±1.02 ^b
N H C	1.34±0.14 ^{abcd}	447.71± 92.45 ^b	5.23±0.93 ^b
Cd L O	0.31±0.09 ^d	206.67± 38.83 ^b	4.82±0.75 ^b
Cd L C	0.72±0.23 ^{abcd}	309.17± 43.41 ^b	5.42±0.47 ^b
Cd M O	0.66±0.13 ^{bcd}	331.25± 71.72 ^b	5.70±0.85 ^b
Cd M C	1.94±0.20 ^a	379.38± 70.72 ^b	5.68±1.05 ^b
Cd H O	1.25±0.29 ^{abcd}	502.08±111.59 ^b	8.40±2.14 ^{ab}
Cd H C	1.60±0.15 ^{abc}	1292.92±314.24 ^a	15.50±3.56 ^a
Significant factor ³⁾	B, C, AC, BC	A, B, C, AB, AC, BC	A, B, AB, BC

- 1) Mean ± S.E.
- 2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.
- 3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA. (See Table 2.)
- 4) Corrected urinary Ca=Ca excretion(ug/day)/Ca intake (mg/day)

Table 8. Urinary protein and calcium excretions

Groups	Urine creatinine (mg/day)	Serum creatinine (mg/100ml)	Creatinine clearance (G.F.R., ml/min)
N L O	¹⁾ 6.59±0.72 ^{2b2)}	0.99±0.08 ^{N.S.3)}	0.88±0.42 ^{N.S.}
N L C	8.38±0.87 ^{ab}	1.07±0.08	0.57±0.10
N M O	8.75±0.85 ^{ab}	1.31±0.09	0.47±0.04
N M C	12.15±0.86 ^{ab}	1.23±0.12	0.71±0.07
N H O	12.17±1.55 ^{ab}	1.38±0.16	0.67±0.14
N H C	14.42±1.18 ^a	1.32±0.22	0.89±0.17
Cd L O	5.90±0.98 ^b	0.85±0.15	0.50±0.04
Cd L C	7.62±0.98 ^{ab}	1.10±0.05	0.48±0.06
Cd M O	11.61±1.19 ^{ab}	0.83±0.10	1.10±0.24
Cd M C	12.85±1.22 ^{ab}	1.36±0.05	0.66±0.06
Cd H O	9.31±0.67 ^{ab}	1.51±0.18	0.45±0.06
Cd H C	11.95±0.67 ^{ab}	1.20±0.14	0.73±0.08
Significant factor ⁴⁾	B, C, AB	B	

- 1) Mean ± S.E.
- 2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.
- 3) Not significant at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.
- 4) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2).

glomerular filtration rate, G.F.R. ml/min)은 식이요인의 영향을 받지 않아서 유의적인 차이를 보이지 않았다.

고찰 및 결론

식이 단백질과 Cys수준이 Cd중독에 미치는 영향을 알아보기 위하여 본 연구에서는 Cd공급군(400ppm)과

비공급군으로 나누고 식이 단백질 수준을 7%, 15%, 40%로 하고 Cys첨가군(식이내 총 Cys함량:0.45%), 비첨가군으로 나누어서 체내 Cd대사와 간, 신장, 소장 및 MT농도와 그리고 신장기능을 측정하였다.

식이 섭취량과 식이 효율(F.E.R.)은 여러 보고들^{27,28)}과 같이 Cd공급으로 인해 감소되었지만 단백질 수준이 높을수록 증가하는 추세였다. 그리고 Cd공급군에서 Cys첨가로 인해 식이효율이 증가하는 경향을 보였다. 체중 증가는 Cd공급으로 현저히 감소하였으며 식이요인에 따른 차이도 뚜렷하였다. 식이 단백질 수준이 높을수록 체중이 증가하였고, 특히 Cys으로 인한 효과가 뚜렷해서 Cd이 공급된 저단백군에서 Cys첨가로 체중감소 현상이 없어졌다. 그리고 Cd공급군중 Cys을 첨가한 중,고단백군(CdMC, CdHC)에서 Cd으로 인한 체중감소가 상당히 극복되어 Cd을 공급하지 않은 저단백군(NLO, NLC)보다 높은 수치를 보였다. 이러한 실험 결과만으로는 Cd으로 인한 성장저하 효과기전은 정확히 규명하기는 어렵지만, Cd중독으로 인한 성장저하는 충분한 Cys공급과 더불어 중등(15%)정도 이상의 단백질 공급으로 저지될 수 있는 것으로 나타났다.

Cd 해독과정에서 가장 중요한 기관이라 할 수 있는 간과 신장의 무게는 Cd공급후 감소되는 것으로 알려져 있다²⁹⁾. 본 연구에서도 간과 신장의 무게는 Cd공급으로 감소되었으나 식이 단백질 수준이 높을수록 증가되었고 Cys첨가로 인해 무게가 증가하는 경향을 보여 두가지 식이인자의 상승작용으로 고단백 - Cys첨가군(CdHC)에서 가장 큰 것으로 나타났다. 만성적인 Cd 중독자에게서 bone mass 감소가 관찰되는데 이는 Cd의 직접적인 영향과 간접적인 영향으로 일어난다. 장기적인 Cd중독시 신장기능에 장애가 나타나고 이로 인해 vitamin D의 active form인 calcitriol(1,25(OH)₂D₃)의 합성량이 감소되어 Ca흡수가 낮아지고 뇨와 변으로의 Ca 배설량이 늘어나게 되어 Cd이 골격에 간접적으로 영향을 끼친다는 보고가 있으며³⁰⁾ 또한 Cd은 bone marrow cell에 직접 작용하여 Osteoclast의 분화를 유도하여 골격감소에 직접적인 영향을 끼친다³¹⁾고 알려져 있다. 본 연구에서도 Cd공급으로 대퇴골의 젖은무게와 회화분량, 그리고 길이가 현저히 감소한 것으로 나타나서 Cd공급시 식이섭취 감소로 인한 골격감소뿐 아니라 Cd의 영향을 받아 bone의 resorption이 증가되고 골격성장이 저하된 것으로 생각된다. 한편, Cd에 의한 대퇴골의 무게와 길이 감소는 고단백 식이의 공급과 Cys첨가로 완화되는 경향을 나타냈다. 그러므로 고단백식이와 함께 Cys이 첨가된 군에서 대퇴골의 무게 및 길이가 Cd으로 인한 영향을 적게 받은 것으로 나타났다.

본 연구에서의 대퇴골의 Cd농도는 Cd공급으로 유의적으로 증가하였고 저단백군에서 높았다. 그러나 Cys첨가로 인한 효과는 나타나지 않았다. 즉, 대퇴골로 이행되는 Cd의 양은 식이 단백질 수준이 높을수록 감소되었고 식이내 Cys수준의 영향은 받지 않은 것으로 보인다. Bone marrow에서도 Cd공급후 MT합성이 유도되지만 그 합성량이 적다⁸⁾고 하므로, MT합성량이 적은 골격조직의 Cd농도에는 Cys이 영향을 주지 않은 것으로 생각된다.

체내에 존재하는 Cd은 2가지 형태로 분류되는데 하나는 cell내 MT와 결합되어있는 형태(MT-bound)이고 다른 하나는 non-MT-bound형태이다. 이때 MT-bound형태는 분해되지 않는 한 독성이 없다고 보고되고 있으나 non-MT-bound형태는 독성이 있다고 밝혀져 있다⁷⁸⁾³²⁾. Non-MT-bound형태는 Cd이 cell내로 유입되었으나 아직 MT가 유도 합성되지 못한 경우나, 유도될 수 있는 MT양 이상의 Cd이 유입된 경우에 생긴다. 그러므로 조직내 Cd농도가 Cd의 독성을 그대로 반영하는 것은 아니다. 따라서 본 연구에서는 MT생성이 많다고 보고되고 있는 간과 신장, 소장에서 MT농도와 Cd농도를 측정하여 Cd중독정도를 평가하였다.

Cadmium은 소장에서 수동적으로 운반되어서 Cd에 의해 유도 합성된 MT에 의해 Cd-MT형태로 장세포내에 격리되어 세포 교체시 lumen으로 배설되고, Cd-MT형태의 일부는 혈중으로 유리된다³²⁾. Min 등³³⁾은 Zn를 pretreatment하고 Cd을 1회 경구투여하였더니 4시간후에 소장 Cd농도가 최고에 도달하였고 16~24시간내에 소장 Cd농도는 다시 낮아진다고 하였다. 이 연구에서는 이와 같은 현상의 주된요인으로 Cd-MT형태로 Cd을 보유하고 있는 소장의 mucosal cell이 박리되어 lumen으로 배설되기 때문이라고 하였다. 이와 같은 보고³⁴⁾와 일치하게 본 연구에서의 소장 Cd농도는 간과 신장의 농도에 비해 매우 낮게 나타났고, 소장의 MT농도도 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

소장을 통해 흡수된 Cd은 Cd-MT형태나 Cd-albumin형태로 혈액으로 방출되어 Cd-MT의 경우는 선택적으로 신장의 proximal tubular cell에 uptake되고 Cd-albumin은 주로 간으로 흡수된다³⁷⁾. 간세포중 혈액과 접하는 세포인 kupffer cell(KC), endothelial cell(EC)은 혈중의 MT합성을 유도하는 glucocorticoid, cytokine, metal 등에 노출되어 있기 때문에 basal MT level이 높다³⁵⁾. 그러므로 이 세포들은 간으로 유입되는 Cd과 신속히 결합하여서 독성을 저지하므로 간의 급성 Cd중독을 막는 중요한 기능을 담당한다고 한다. 그리고 간부피의 90%를 차지하는 parenchymal cell

(PC)의 Cd에 의한 MT유도능력이 가장 빨라, 간으로 이행된 Cd은 먼저 KC과 EC, 그리고 PC에 의해 신속히 MT-bound형태가 된다³⁵⁾.

그러나 이에 비해 신장으로 운반된 Cd-MT는 그 자체가 pinocytosis에 의해 세포내로 들어가는데 세포내 lysosome의 cysteine protease에 의해서 분해되어 이온 상태의 Cd이 생기게 된다³⁶⁾. Cd이온은 신장의 새로운 MT합성을 유도하지만 효소에 의한 분해 속도보다 합성 속도가 늦기 때문에 신장조직이 손상받는다고 한다³⁷⁾. 그러므로 간과 신장조직의 basal MT level은 Cd의 독성을 막는 중요한 역할을 담당한다고 보여진다.

본 연구에서 Cd을 공급하지 않은 군의 간과 신장내 MT농도가 Cys첨가군에서 높게 나타났는데 즉, Cys첨가로 인한 이러한 basal MT level의 증가는 Cd에 노출되었을때 신속히 Cd을 격리시켜 줌으로써 MT합성 전에 생길 수 있는 Cd의 toxicity를 줄일 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 Cd공급군의 간과 신장의 Cd농도는 저단백군에서, 그리고 Cys을 첨가한 군에서 높게 나타났다. 이때 저단백군의 Cd농도가 높은 것은 노,변을 통한 배설이 적어 Cd보유율이 높기 때문으로 생각되며, Cys첨가군은 Cys비첨가군에 비해 식이섭취량이 많았으므로 체내로 유입된 Cd의 절대량이 많았기 때문으로 생각된다. 한편, 세포내로 유입된 Cd이 MT합성을 유도하므로 간과 신장의 MT합성량은 Cd농도와 같은 경향을 보여서, MT합성은 Cd공급으로 크게 증가하였고 특히 Cd공급군에서 Cys첨가로 합성량이 매우 크게 증가하였다. 그러므로 간과 신장조직에서 Cd에 의한 MT유도 합성능력은 식이 단백질 수준보다는 Cys첨가의 영향을 받아 현저하게 증가하였다고 결론지을 수 있겠다. 이와 같은 사실로 미루어 보아 Cys공급은 간과 신장의 basal MT level을 증가시켜 Cd의 초기독성을 막으며 Cd에 장기적으로 노출되었을때 지속적으로 많은 양의 MT생성을 가능하게 하여 Cd제독에 효과적인 것으로 생각된다.

Chan 등³⁸⁾은 Cd을 2주간 공급받은 쥐의 간을 Cd을 공급받지 않은 쥐에게 이식하고 이식후 47일 후에 간과 신장의 Cd과 MT농도를 조사하였는데, 간보다 신장의 Cd과 MT농도가 오히려 높았고 혈액에서 Cd과 MT가 발견되었다고 한다. 본 연구에서 혈중 Cd농도가 간의 Cd농도와 같은 경향을 보였는데, 혈액의 Cd농도가 이와같이 검출된 것은 간의 Cd-MT가 혈액으로 방출되었음을 말해주며 만성적인 Cd중독시 혈중의 Cd의 상당량이 간에서 유래하는 Cd-MT라는 위의 결과³⁸⁾와 일치하는 것이다.

신장내의 Cd-MT양이 많을 경우 혈액의 Cd-MT는

신장으로 재흡수되지 못하고 뇨로 배설되는 것으로 알려져 있다³⁹⁾. 그러므로 신장의 Cd과 MT함량이 높은 경우 뇨로의 Cd배설량이 증가할 것으로 기대된다. 본 연구 결과, 뇨를 통한 Cd배설량이 신장의 Cd농도와 MT농도에 비례하여 증가하는 경향을 보여서 Cys첨가군의 뇨를 통한 Cd배설량이 많았다. 이것은 신장내의 Cd-MT양이 많을 경우 Cd은 재흡수되지 않고 배설된다는 위의 보고³⁹⁾와 일치하는 결과이다. 한편, Roels 등⁴⁰⁾에 의하면 신장이 손상되면 뇨 Cd배설량이 크게 증가하지만 손상되기 전에는 신장의 Cd축적량과 뇨를 통한 Cd배설량은 서로 상관성을 보인다고 하므로 신장기능이상의 척도가 뇨 Cd배설량일 경우 본 실험에서는 신장의 Cd농도와 뇨를 통한 Cd배설량이 비례하였으므로 실험동물의 신장에 기능이상은 나타나지 않은 것으로 판단된다.

변으로의 Cd배설량은 고단백군에서 높았고 그중에서도 Cys를 첨가하지 않은 고단백군이 가장 높았다. 그리고 저,중단백군에서는 Cys첨가군이 Cys비첨가군에 비하여 높은 경향을 보였다. 소장의 Cd은 MT와 결합됨으로써 세포내에 격리되어 있다가 세포가 박리될 때 변으로 배설된다고 알려져 있다. 그러므로 저,중단백-Cys첨가군과 고단백군의 변을 통한 Cd배설량 증가는 소장의 MT합성량과 관련이 있을 것으로 생각되었으나 소장세포에서 Cd이 빠른 속도로 사라진다는 보고³⁹⁾와 같이 본 연구에서의 소장 Cd과 MT농도가 낮아서 어떠한 연관성을 찾기는 어려웠다. 한편, Cd이온은 장내 단백질 소화효소의 활성을 억제시켜 소화되지 못한 oligopeptides를 증가시키는데 이것에 Cd이 결합되어 변으로 배설된다고 한다⁴¹⁾. 이와 같은 단백질의 Cd흡수 억제효과는 본 실험결과에서도 나타나 고단백군에서 변을 통한 Cd배설량이 많았고 특히 Cys를 첨가하지 않은 군의 변 배설량이 Cys를 첨가한 군보다 높게 나타나서 변으로의 Cd배설증가에는 Cys보다는 식이 단백질 자체의 효과가 더 큰 것으로 보여진다. 그러므로 Cd보유율은 단백질의 Cd흡수 억제효과와 Cys의 뇨, 변을 통한 Cd배설 증진효과로 인해, 고단백군과 저,중단백-Cys첨가군에서 낮게 나타났다.

Cd공급으로 인한 신장의 손상은 주로 근위세뇨관이고 세뇨관이 손상되고 주변의 조직괴사가 일어나면서 수반되는 2차적인 증세⁴²⁾로서 사구체의 손상이 나타나는 것으로 알려져 있다. 세뇨관이 손상되면 사구체를 통과한 저분자량의 단백질과 무기질등을 재흡수하지 못하고 배설시키게 된다⁴³⁾. 본 연구에서 뇨중 단백질 배설량은 Cys공급으로 증가하였으며 단백질 수준이 높을수록 증가하는 추세를 보였으나 Cd공급으로 인한 배설량 증가는 나타나지 않았다. 그러나 Cd공급군중 Cys공급군의

단백질 배설량이 Cys비공급군에 비해 높은 경향을 보였는데 이는 Cys공급으로 세뇨관 내에 Cd-MT양이 늘어나서 혈액 Cd-MT의 재흡수가 줄어들고 이로 인해 뇨로 MT가 배설되어 뇨중 단백질 배설량이 높았기 때문으로 생각된다³⁹⁾. 본 연구조건에서의 Cd중독으로는 뇨중 단백질 배설량이 유의적으로 증가되지는 않았다. 뇨 Ca배설량과 Ca섭취량으로 보정한 뇨 Ca배설량은 Cd공급으로 인해 증가하는 경향을 보였는데 이것은 본 연구에서 Cd공급으로 대퇴골의 길이와 무게, 그리고 회분함량이 감소된 것과 관련되어 설명될 수 있겠다. Cd공급으로 골격조직의 resorption이 증가되고 세뇨관에서 재흡수되어야 할 Ca의 절대량이 많아져 뇨를 통한 Ca배설량이 증가된 것으로 보여진다. 본 연구에서 뇨중 단백질 배설량과 사구체 여과율이 Cd공급에 의한 영향을 받지 않았으므로 Cd에 의한 뇨 Ca배설량의 증가는 신장의 손상으로 인한 것 보다는 골격조직에서의 Cd의 영향으로 나타난 결과로 생각된다. 한편, 고단백 식이와 황 함유 아미노산을 공급하였을 때 뇨 Ca배설량이 증가되었다는 보고들⁴⁵⁻⁴⁷⁾이 있는데 본 연구에서도 식이 단백질 수준이 높을수록 그리고 Cys첨가군에서 뇨 Ca배설량이 증가하는 추세를 보여 같은 경향을 나타냈다. 사구체 여과율은 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 Cd에 의한 사구체 손상은 유발되지 않았음을 보여준다. 앞서 언급한대로 사구체가 손상되는 것은 세뇨관이 손상되고 주변의 조직괴사가 일어나면서 수반되는 2차적인 증세⁴²⁾로 나타나므로 본 실험조건보다 높은 Cd양에 노출되거나 실험기간이 연장되었을 때 일어날 것으로 생각된다⁴⁸⁾.

이와 같은 결과를 종합해 볼 때, 식이 단백질과 Cys 모두 Cd중독을 완화시키는데 효과적이었는데 그 작용기전은 다른 것으로 생각된다. 즉, Cys은 간과 신장에서 MT합성량을 증가시켜 Cd 중독을 완화시키고, 식이 단백질은 변으로의 Cd배설량을 증가시켜 Cd의 보유율을 낮춤으로써 Cd중독을 완화시키는 것으로 생각된다. 그러므로 Cd에 노출되었을 때 고단백식이와 함께 Cys이 첨가된 경우 두가지 식이인자의 상승효과로 식이 효율, 체중증가가 가장 높았고 Cd으로 인한 장기무게의 감소가 회복되는 것으로 나타나 가장 효과적으로 Cd을 제독한 것으로 보인다.

Literature cited

- 1) Anderson O, Nielsen JB, Nordberg GF. Factors affecting the international uptake. In : Nordberg GF, Herber RFM, Alssio L, Eds. : Cadmium in health environment toxicity

- and carcinogenicity, No.118, pp.173-187, IARC Scientific Publication Lyon, 1992
- 2) Nordberg GF. Application of the 'critical concentration' concept to human risk assessment for cadmium. In : Nordberg GF, Herber RFM, Alssio L, Eds. : Cadmium in health environment toxicity and carcinogenicity, No.118, pp.3-14, IARC Scientific Publication Lyon, 1992
 - 3) Endo T, Shaikh ZA. Cadmium uptake by primary cultures of rat renal cortical epithelial cells : Influences of cell density and other metal ions. *Toxicol Appl Pharmacol* 121 : 203-209, 1993
 - 4) 이서래. 식품의 안정성 연구. 제 4 장, 이화여자대학교 출판부, 서울, 1993
 - 5) Joint FAO/WHO Expert committee on Food Additives. *WHO Tech Rep Ser* 505 : 20-24, 1972
 - 6) Macdowell LR. Minerals in animal and human nutrition, pp.359-361, Academic Press, 1992
 - 7) Nordberg M. General aspects of cadmium : Transport, uptake, and metabolism by the kidney. *Environ Health Perspect* 54 : 13-20, 1984
 - 8) Manuel Y, Thomas Y, Pellegrini. Metallothionein and tissue damage. In : Nordberg GF, Herber RFM, Alssio L, Eds : Cadmium in health environment toxicity and carcinogenicity, No.118, pp.231-238, IARC Scientific Publication Lyon, 1992
 - 9) 권오란 · 김미경. 식이 단백질과 Calcium 수준이 흰쥐의 Cadmium 중독과정중 Metallothionein과 조직의 형태변화에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25(5) : 360-378, 1992
 - 10) 이해영 · 김미경. 식이내 Cadmium과 단백질수준이 흰쥐의 체내 단백질대사 및 Cadmium중독에 미치는 영향. *한국영양학회지* 21(6) : 27-37, 1988
 - 11) 배계현. 식이내 Calcium 수준이 흰쥐의 Cadmium중독에 미치는 영향. 이화여대 석사학위 청구논문, 1989
 - 12) 김미경 · 설은영. Chitin과 Chitosan이 흰쥐의 Cadmium중독과 지방대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 27 : 996-1006, 1994
 - 13) 배서영. 식이내 Zinc가 흰쥐의 Cadmium중독과 대사에 미치는 영향. 이화여대 석사학위 청구논문, 1990
 - 14) Revis NW, Osborne TR. Dietary protein effect on cadmium and metallothionein accumulation in the liver and kidney of rats. *Environ Health Perspect* 54 : 83-91, 1984
 - 15) Hidalgo J, Garvey JS, Armario A. On the metallothionein, glutathione and cysteine relationship in rat liver. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 255(2) : 554-564, 1990
 - 16) Sendelbach LE, White CA, Howell S, Gregus Z, Klaassen CD. Effect of sulphhydryl-deficient diet on hepatic MT, GSH, PAPS level in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 102 : 259-267, 1990
 - 17) Zinterhofer LTM, Jotolow PT, Fappiano A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78 : 664, 1971
 - 18) Yeager DW, Cholak J, Henderson EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometry. *Environmental Science and technology* 5 : 1020, 1971
 - 19) Onosaka S, Chrian MG. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods. *Toxicol Appl Pharmacol* 63 : 270-274, 1982
 - 20) Eaton DL, Toal BF. Evaluation of the Cd/Hb affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissue. *Toxicol Appl Pharmacol* 66 : 134-142, 1982
 - 21) Eaton DL, Chrian MG. Determination of metallothionein in tissues by cadmium-hemoglobin affinity assay. *Methods in enzymology* 205 : 83-88, 1991
 - 22) Lowry OH, Resebrough NJ, Farr AC, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry* 193 : 265-275, 1951
 - 23) Peterson GL. *Anal Biochem* 83 : 346-356, 1977
 - 24) Oser BL. Haw's physiological chemistry, pp.1040, 4th edition, McGraw-Hill Book, NewYork, 1965
 - 25) 이귀녕 · 김진규. 임상화학, pp. 72, 의학출판사, 서울. 1988
 - 26) Zar JH. Biostatistical Analysis, pp.162-252, 2nd edition Prentice-Hall International Inc, 1984
 - 27) Toraason M, Foulkes EC. Interaction between calcium and cadmium in the 1,25-dihydroxy-vitamin D₃ stimulated rat duodenum. *Toxicol Appl Pharmacol* 75 : 98-104, 1984
 - 28) Cousins RJ, barber AK, Trout JR. Cadmium toxicity in growing swine. *J Nutr* 103 : 964-972, 1973
 - 29) Faeder EJ, Chaney SQ, King LC, Hinner TA, Bruce R, Fowler BA. *Toxicol Appl Pharmacol* 39 : 473-487, 1977
 - 30) Katsusa O, Hiratsuka H, Matsumoto J, Tsuchitani M, Unemura T, Marumo F. Ovariectomy enhances cadmium-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 119 : 267-274, 1993
 - 31) Dohi Y, Sugimoto K, Yoshikawa T, Ohgushi H, Katsuda T, Tabata S, Moriyama T. Effect of cadmium on osteogenesis within diffusion chambers by bone marrow cells : biological evidance of decreased bone formation capacity. *Toxicol Appl Pharmacol* 120 : 274-280, 1993
 - 32) Wang XP, Chun HM, Goyer RA, Cherian G. Nephrotoxicity of repeated injections of Cd-MT in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 119 : 11-16, 1993
 - 33) Ohta H, Cherian M. Gastrointestinal absorption of cadmium and metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol* 107 : 63-73, 1991
 - 34) Min KS, Fujita Y, Onosaka S, And Tanaka K. Role of intestinal metallothionein in absorption and distribution of orally administered cadmium. *Toxicol Appl Pharmacol*

- 109 : 7-16, 1991
- 35) McKim Jr JM, Liu J, Liu YP, Klaassen D. Distribution of cadmium chloride and cadmium-metallothionein to liver parenchymal, kupffer, and endothelial cells : Their relative ability to express metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol* 112 : 324-330, 1992
 - 36) Min KS, Nakatsubo T, Fujita Y, Onosaka S, Tanaka K. Degradation of cadmium metallothionein *in Vitro* by lysosomal proteases. *Toxicol Appl Pharmacol* 113 : 299-305, 1992
 - 37) Dorian C, Gatto VH, Gattone 2, Klaassen CD. Accumulation and degradation of protein moiety of CdMT in the mouse kidney. *Toxicol Appl Pharmacol* 117 : 242-248, 1992
 - 38) Chan HM, Zhu LF, Zhong R, Grant D, Goyer RA, Cherian MG. Nephrotoxicity in rat following liver transplantation from cadmium-exposed rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 123 : 89-96, 1993
 - 39) Friberg L. Cadmium and the kidney. *Environ Health Perspect* 54 : 1-11, 1984
 - 40) Roels HA, Bernard A, Buchet JP, Goret A, Lauwerys RR, Chettle DR, Harvey TC, Alhaddad IK. The critical concentration of Cd in the renal cortex and in urine in man. *Lancet* 1, 221, 1979
 - 41) Kojima S, Kiyozumi M, Mishima M, Honda T, Nakagawa M. Effect of three proteins on absorption of cadmium in rats. *Toxicology* 34 : 161-171, 1985
 - 42) Noriyama K, Sugata Y, Yamamoto A, Noriyama H. Effects of dietary cadmium on rabbits. I. Early signs of cadmium intoxication. *Toxicol Appl Pharmacol* 31 : 4-12, 1975
 - 43) Buchet JP, Lauwerys R, Roels H, Bernard A, Bruaux P, Claerys F, Ducoffre G, De Plaen P, Staessen J, Amery A, Lijnen P, Thijs L, Rondia D, Sartor F, Saint Remy A, Nick L. Renal effects of cadmium body burden of the general population. *Lancet* 336 : 699-702, 1990
 - 44) Leffler P, Jin T, Nordberg GF. Cd-MT-induced kidney dysfunction increase magnesium excretion in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 103 : 180-184, 1990
 - 45) Zemel MB, Schuette SA, Hegsted M, Linkswiler HM. Role of the sulfur-containing amino acids in protein-induced hypercalciuria in men. *J Nutr* 111 : 545-552, 1981
 - 46) Hegsted M, Schuette SA, Zemel MB, Linkswiler HM. Urinary calcium and calcium balance in young men as affected by level of protein and phosphorus intake. *J Nutr* 111 : 553-562, 1981
 - 47) Anand CR, Linkswiler HM. Effect of protein intake on calcium balance of young man given 500mg calcium daily. *J Nutr* 104 : 695-700, 1974
 - 48) Aughey E, Fell GS, Scott R, Black M. Histopathology of early effects of oral cadmium in the rat kidney. *Environ Health Perspect* 54 : 153-161, 1984