

송엽 추출물을 이용한 카드뮴 독성의 해독에 관한 연구

이종섭 · 박경옥

원광대학교 의과대학 예방의학교실

A Study on Antitoxic Effects of Pine Leaf Extracts against Cadmium Toxicity in Rats

Jong-Sub Lee, Kyung-Ok Park

Department of preventive medicine, College of Medicine, Wonkwang University

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the antitoxic effects of *Pine Leaf* extracts against cadmium toxicity. The experimental rats were divided into 5 groups, such as control group cadmium alone treatment group and simultaneous treatment groups of cadmium and three doses of *Pine Leaf* extracts. Each group was administered with different dose of *Pine Leaf* extracts such as 0.5 mg, 2.5 mg, 5.0 mg/kg wet weight in pallets for 12 weeks.

Cadmium Chloride(CdCl₂) was administered by 4 mg/kg body weight.

The results were summarized as follows :

The simultaneous administration of cadmium and *Pine Leaf* significantly more decreased cadmium concentration in liver tissues compared to the administration of cadmium only.

When blood were measured, no significantly difference in haemoglobin, haematocrit, erythrocyte values compared to the administration of cadmium only, but RBC significantly more increased.

The simultaneous administration of cadmium and *Pine Leaf* more no significantly difference metallothionein concentration in liver than the administration of cadmium only.

There were showed the histopathological slight changes in the liver and kidney tissues of rats.

Key words : *Pine leaf*, antitoxic effects, cadmium toxicity

I. 서 론

급속한 산업발달로 인하여 산업사회의 부산물인 각종 오염물질이 생태계로 유입됨에 따라 점차 환경오염이 가중되고 먹이사슬을 통한 생물학적 농축으로 인해 중금속에는 생물의 생존에까지 영향을 미치고 있다. 특히 일부 유해중금속의 생태계오염에 의한 생체내 유입 및 축적으로 다양한 독성과 중독사건등 사회적 문제를 야기시킨 바 있다.^{1,2)}

이들 중금속중 카드뮴은 주로 아연 광석의 제련시 부산물로 얻어지며, 세계적으로 일년에 평균 생산과 소비량은 27,000톤에 이르고 있다.³⁾ 카드뮴의 대사

는 매우 긴 생물학적 반감기를 가지고 따라서 생체 내에서 지속적인 축적이 이루어진다.⁴⁾ 인간에서 카드뮴량의 약 5%는 경구로 흡수되어 지고, 위장관에 의한 흡수는 여러가지 nutritional factor에 의해 영향을 받는다.

혈액중 카드뮴의 90% 이상이 세포에서 발견되며 카드뮴 저장의 2대 장소는 간장과 신장이다. 그곳에 축적된 카드뮴량은 생체 총하중의 약 50%에 이른다. 비직업적으로 노출된 사람에서 간장중 카드뮴의 농도는 연령에 따라 계속적으로 증가하며, 신장에서 도 역시 최소한 50-60세까지 연령에 따라 증가한다. 유럽과 미국에서 renal cortex의 카드뮴 평균치는 15-50 ppm으로 보고되고 있다. renal damage가 발생했을때 신장에서 카드뮴수준은 감소하며 조직에서 카드뮴은 주로 cystein residue가 풍부한 metal-

*본 연구는 1995년도 원광대학교 의과대학 연구소 연구비 지원에 의해 수행되었음.

lothionein형성에 기여한다.

누적적인 독성효과로 흡수된 카드뮴의 적은 부분만이 배출된다. 이 배출은 주로 뇨를 통해 이루어진다. 뇨 카드뮴의 편린은 metallothionein이다.⁵⁾

인간에서 급성경구중독은 보통은 카드뮴 도금된 용기에 저장하는 동안 카드뮴으로 오염된 산성식품이나 음료의 섭취로 기인된다. 또한 작업장에서 손가락을 뜯거나 흡연, 식사중 카드뮴분진에 노출된 노동자에서 관찰된다. 증상은 위장관의 자극으로 메스꺼움과 구토등이다. 치명적인 중독의 경우 증상은 수분손실로 인한 쇼크와 급성신장손상 혹은 순환기 기능저하가 뒤따른다. 카드뮴에 대한 장기간의 노출은 여러기관(신장, 폐, 골, 혈액상)의 영향을 줄 수 있다. 그것은 역시 카드뮴이 인간에 대해 발암성 물질이며 순환기계질환(특히 고혈압)의 발달에 역할을 하고 있음을 암시하고 있다.⁴¹⁾ 유용한 정보는 인간에서 카드뮴의 주요장기는 신장임을 제시하고 있다.

카드뮴은 형태적인, 기능적인 변화가 일어나는 renal cortex에 축적된다.⁴⁾ 전통적으로 기능적인 병변은 저분자 단백질(β_2 -microglobulin, retinol binding protein, lysozyme)을 배출하는 Fanconi syndrome과 같은 tubular type의 단백뇨이다. 이 단백뇨는 glomeruli를 통하여 여과되는 저분자-단백질(MW<40000)로서 정상적으로는 거의 완전히 proximal tubule에서 재흡수된다. 최근 뇨중 β_2 -microglobulin의 결정은 tubular단백뇨의 초기검출을 위해 광범위하게 사용되는 검사이다.⁶⁾ 따라서 저분자나 고분자 단백질의 증가된 요중 배출은 유의한 증후이며 초기단계에서 카드뮴에 의해 유도된 신장손상을 검출하기위해 동시적으로 관찰되어야만 한다. 중독의 초기단계에서 특이적 혈장단백질의 유의한 배출의 증가는 총단백뇨가 정상치내에 존재할 때도 발견될 수 있다.

최근 중금속 해독실험으로 李²⁵⁾는 복령을 이용하여 마우스 장기내 cadmium 해독에 관한 연구를 하였으며 李²⁶⁾는 감두탕이 연중독에 대한 예방효과를 보고하였으며 李²⁷⁾는 니켈 급성중독에 대한 인삼 사포닌의 방어효과에 관한 연구가 보고되고 있다. 이에 본연구는 한방에서 전통적으로 해독제로 이용되고 있는 송엽을 대상으로 중금속 해독효과가 있는지를 규명코자 실시되었다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험 동물 및 재료

1) 동물 및 사료

실험동물은 원광대학교 의과대학 동물사육장에서 사육한 체중 150 ± 30 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 암컷을 이용하였으며, 실험실 환경은 온도 20°C , 습도 55 %로 維持하고 cage 당 5마리씩 넣어서 일주일동안 실험용 펠레트 사료²⁸⁾(신촌사료 주식회사)와 수분을 공급하여 안정화시킨 후 사용하였다.

2) Cadmium 및 송엽

실험에 사용한 중금속은 cadmium chloride (CdCl_2 ; 일본 Wako chemical 제품 GR급)과, 송엽(Pine Leaf)은 12월경에 채취한 후, 정선하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) 조 제

송엽 200 g을 2000 ml round flask에 넣고 600 ml의 methylalcohol을 넣은 다음 냉각기를 부착시키고 3 시간 환류추출하여 70°C 에서 1차 추출하였다. 1차 추출하여 얻은 추출물을 ethylacetate를 이용하여 2차 추출물을 얻어 그 분획을 실험에 사용하였다.

2) 투 여

실험동물은 Table 1과 같이 5 군으로 구분하여 1군 당 5마리씩 하여 control 군(Group I), cadmium(4 mg/kg) 단독투여군(Group II), cadmium(4 mg/kg)과 송엽 저용량(0.5 mg/kg)의 병용투여군(Group III), cadmium(4 mg/kg)과 송엽 중용량(2.5 mg/kg)의 병용투여군(group VI), cadmium(4 mg/kg)과 송엽 고농도(5.0 mg/kg)의 병용투여군(Group V)으로 사료에 혼합하여 12주간 투여하였다.

3) 장기적출

사료 투여후 12주가 경과한 다음 흰쥐를 屠殺시키고, 혈액과 각 장기조직을 적출하여 cadmium과 metallothionein 농도, β_2 -microglobulin 량, 병리조직상의 변화 등의 측정에 사용하였다.

4) 조직내의 중금속 함량 측정

흰쥐를 ether로 마취시키고 간장및 신장을 적출한 다음 3차 증류수로 洗滌하여 냉동건조기에서 48 시간 건조시킨 후 200°C 가열판에서 HNO_3 , H_2SO_4 및 HClO_4 를 이용한 습식탄화방법에 의하여 유기물을 분해시킨 후 $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$ (25w/v%) 10 ml와 brom

thymol blue 지시약 2-3방울을 넣고 NH_4OH 를 가하여 pH=9.5가 되도록 유지시키면서 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (40w/v%) 10 ml를 가한 다음 Separtory funnel에 Sodium diethyl ditho carbamate(10w/v%) 10 ml와 Methyl isobutyl ketone을 넣고 격렬하게 혼든 후 방치하여 Methyl isobutyl ketone층을 분리하여 120°C 가열판에서 휘산시킨 후 0.1N HCl로 용해시킨 다음 Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)로 이용하여 장기내 cadmium 함량을 측정하였다.

5) 조직내 metallothionein함량 측정

Liver와 Kidney를 각각 1 g을 취하여, 생리적 식염수로 세척한 다음, 산분해 방법에 의하여 150°C 가열판에서 유기물을 분해시킨 후, B.T.B지시약 3방울 떨어뜨린 후 암모니아수로 pH=9.5가 되도록 한 후 여기에 ammonium sulfate용액(40w/v%) 10 ml를 넣고 diethyl dithiocarbamate을 이용하여 킬레이트화물을 만든 다음, methyl isobutylketone으로 중금속을 추출하여 원자흡광분광광도계(Varian Spectr. AA-30)을 이용하여 중금속 함량을 분석하였다.

또한 조직중의 metallothionein은 liver와 kidney를 1 g 취하여 생리적 식염수로 세척한 다음, 0.25M 설탕용액(sucrose, Sigma) 를 가하면서 teflon glass homogenizer를 이용하여 조직을 균질화 되도록 하였으며, 4°C에서 20분간 원심분리(Beckman)하여 세포액(cytosol)을 얻었다. 세포액 0.2 ml를 0.03M tris-HCl(pH=8.0) 완충용액에 첨가한 후 10 ppm의 CdCl_2 (standard solution) 1 ml로 포화시키고 실온에서 5분간 배양하였다. 여기에 rat RBC hemolysate 0.2 ml를 가하여 과량의 Cd과 MT이외의 모든 bioligand를 제거하고, 100°C 수욕탕에 1분간 정치시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 1,000 g(Beckman, room temperature)로 원심분리하여 상층액을 취하였다.

이상의 rat RBC hemolysate첨가와 열처리 및 원심분리 과정을 3회 반복하여 얻은 시료를 카드뮴 농도 측정에 이용하고 최종적인 MT 농도 계산은 카드뮴 6 g 원자가 1M의 MT(분자량 6,050)과 결합하는 것으로 환산하여 조직 mg당 ug의 농도로 표시하였다.

6) 혈청중의 β_2 -microglobulin 측정

모든 실험동물을 ether로 마취시킨 다음 혈액을

心囊에서 주사기를 이용하여 3 ml씩 채혈하였으며, 3,000 rpm으로 15분간 속심분리하여 혈청을 얻었고, 모든 standard 혈청은 이중으로 검사했다. 측정순서는 total count와 well은 비워놓고 standards(0, 50, 100, 400, 1000, 4000 μl)를 100 μl 씩 넣고, total count와 각 standards를 넣은 다른 well에 혈청을 10 μl 씩 넣은 후, 혈청을 넣은 well에 Phosphate Buffer를 100 μl 씩 넣고 희釋시켰다.

측정방법으로 첫째, total count를 포함한 각 well에 $\beta_2\text{-m } ^{125}\text{I}$ reagent solution을 200 μl 씩 넣는다. 둘째, 모든 well에 anti- β_2 -microglobulin monoclonal antibody-coated bead를 하나씩 넣는다. 셋째, 각 tray를 cover seal로 덮는다. 넷째, room temperature 20°C 200 rpm clinical rotator를 이용하여 3시간 동안 incubation 시킨다. 다섯째, incubation이 끝나면 깨끗이 씻고 tray well에 남아 있는 bead를 각각의 assay tube로 옮긴다. 여섯째, bead가 담겨있는 assay tube를 well type gamma scintillation counter(packard, multi prias 2)로 1분씩 측정한다.

7) 장기의 병리 및 조직검사

실험동물을 ether로 마취시킨 다음에 폐, 간장을 적출하고, 절취된 조직은 10%의 neutral formalin으로 24시간동안 고정시켰고, 12-24시간동안 水洗시킨 후, 70%, 80%, 90%, 95% 및 100% 에탄올(ether alcohol)에 단계적으로 탈수과정을 거쳐 Xylene I, II, III로 투명시킨후 paraffin으로 침투시켰다. 그 다음에 paraffin으로 包埋를 한 후, 4 mm 두께로 절편하여 hematoxylin-eosin 염색하였다. 마지막으로 최종탈수 및 Xylene으로 투명 시키고 봉입하였다. 각각의 조직은 광학 현미경으로 검경하였으며, 100배의 배율로 촬영하였다.

8) 통계처리

측정된 자료의 통계처리는 ANOVA-test 및 T-test를 이용하였다

III. 연구 결과

1. 체중변화

대조군과 카드뮴 단독투여군(CdCl_2 4 mg/kg), 카드뮴과 송엽(0.5 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg) 병용투여군의 체중변화를 실험초기에서 12주까지 매주 측정된 결과는 Table 1 및 Fig.1 과 같다. 카드뮴

Table 1. Mean body weight of rats by week (): Percent change of body weight

구 분	Body weight(%)				
	Group I Control	Group II CdCl ₂ (4 mg/kg)	Group III CdCl ₂ (4 mg/kg) +Pine Leaf(0.5	Group IV CdCl ₂ (4 mg/kg) +Pine Leaf(2.5	Group V CdCl ₂ (4 mg/kg) +Pine Leaf(5.0
initial	157.0±42.66(100)	133.4±28.30(100)	154.2±19.17(100)	166.5±26.49(100)	160.6±2.51(100)
1st week	189.0±41.51	112.0±20.80	131.2±20.07	138.8±22.33	147.0±2.00
2nd week	200.8±46.79	106.4±25.81	122.5±26.18	125.8±28.67	139.6±7.40
3rd week	238.4±54.55	119.0±30.58	128.8±34.41	128.8±37.90	146.2±19.04
4th week	250.4±59.14(159.2)	140.3±54.90(105.3)	149.5±40.90(96.7)	160.3±25.70(96.4)	163.6±18.89(101.9)
5th week	225.2±58.31	147.3±45.67	162.0±45.40	154.3±32.72	157.6±13.24
6th week	261.2±57.20	198.0±49.02	207.0±45.91	181.0±80.72	215.2±17.05
7th week	273.0±57.89	227.3±48.66	227.0±52.05	218.0±25.71	195.4±13.56
8th week	298.2±60.42(189.8)	231.0±48.36(109.7)	243.7±71.00(157.8)	268.3±25.50(161.4)	224.8±19.88(140.0)
9th week	296.2±67.33	241.3±47.16	259.0±68.20	293.3±23.12	256.0±27.99
10th week	315.0±66.01	252.3±46.05	249.3±71.58	273.0±23.52	231.0±25.40
11th week	313.4±67.45	267.8±37.53	281.7±80.96	303.3±17.79	254.6±31.71
12th week	298.8±66.52(189.8)	267.3±48.89(141.2)	287.0±77.66(186.4)	316.0±32.19(190.4)	238.6±29.90(148)

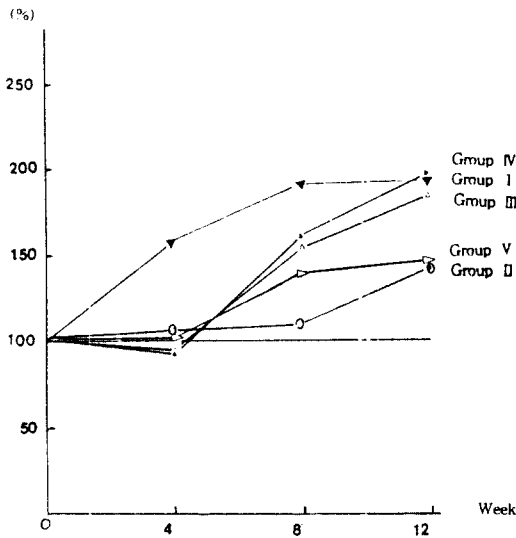


Fig. 1. Body weight change of rats by week

단독 투여군과 카드뮴 및 송엽 병용투여군 모두 실험 4주 후 까지는 체중의 변동이 없이 약간 감소했지만, 실험 8주후 부터는 실험초기에 비해 증가하는 경향을 보이고 있다. 실험군 별로 비교하면 카드뮴 단독 투여군에 비해 카드뮴과 송엽 고용량(5.0 mg/kg) 병용투여군에서는 체중증가율에서 큰차이를 보이지 않고 있지만, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg), 카드뮴과 송엽 중용량(2.5 mg/kg) 투여군은 뚜렷한 증가 추세를 보이고 있다.

2. 조직내 중금속 함량

조직내 중금속 농도를 측정된 결과는 Table 2과 같다.

간장의 경우 카드뮴 단독 투여군의 카드뮴 농도는 212.09±14.25 ppm이었으며, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg)의 병용 투여군에서는 187.52±42.32 ppm, 카드뮴과 송엽 중용량(2.5 mg/kg) 병용 투여군에서는 159.92±75.75 ppm, 카드뮴과 송엽 고용량(5.0 mg/kg) 병용 투여군에서는 143.72± 56.32 ppm으로 송엽의 투여 용량에 비례하여 간장내의 카드뮴 농도가 통계적으로 유의하게 감소하는 것으로 나타났다.(p<0.05)

신장내 카드뮴 농도는 카드뮴 단독 투여군의 경우 181.90±76.39 ppm이었고, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg) 병용 투여군에서는 160.32±49.84 ppm, 카드뮴과 송엽 중용량(2.5 mg/kg) 병용 투여군에서는 129.58±23.78 ppm, 카드뮴과 송엽 고용량(5.0 mg/kg) 병용 투여군에서는 135.01± 72.8 ppm으로 송엽의 투여 용량에 비례하여 신장내의 카드뮴 농도가 통계적으로 유의하게 감소하는 것으로 나타났다.

3. 조직내 metallothionein농도

간장조직에서 metallothionein농도를 측정된 결과는 Table 3와 같다. 간장조직의 metallothionein농도는 카드뮴 단독 투여군의 경우 66.38±25.69 mg/g이었고, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg)의 투여

Table 2. Cadmium concentration in organs after 12th weeks treated with cadmium chloride and pine leaf.

구 분	Cd Concentration in organs(ppm)	
	Liver*	Kidney
Group I Control	0.23± 0.11	0.45± 0.22
Group II CdCl ₂ (4 mg/kg)	212.09± 137.25	181.90± 76.39
Group III CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(0.5 mg/kg)	187.52± 42.32	160.32± 49.84
Group IV CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(2.5 mg/kg)	159.92± 75.75	129.58± 23.78
Group V CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(5.0 mg/kg)	143.72± 56.32	135.01± 72.8

* : P<0.05

Table 3. Metallothionein concentration in organs after 12th weeks treated with cadmium and pine leaf.

구 분	Metallothionein Concentration in organs	
	Liver**	Kidney
Group I Control	3.22± 0.13	2.04± 0.51
Group II CdCl ₂ (4 mg/kg)	66.38± 25.69	32.03± 10.13
Group III CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(0.5 mg/kg)	70.46± 24.22	16.85± 3.77
Group IV CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(2.5 mg/kg)	57.83± 15.87	18.11± 5.14
Group V CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(5.0 mg/kg)	93.85± 18.59	26.15± 5.30

** : P<0.01

시 70.46±24.22 mg/g, 카드뮴과 송엽 증용량(2.5 mg/kg)병용투여시 57.83±15.87 mg/g, 카드뮴과 송엽 고용량(2.5 mg/kg) 투여시 93.85±24.22 mg/g으로 송엽 투여용량이 증가함에 따라 간장내 metallothionein의 농도는 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

신장조직내 metallothionein의 농도는 카드뮴 단독 투여시 32.03±10.13 mg/g이었으며, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg) 투여시 16.85 mg/g, 카드뮴과 송엽 고용량(2.5 mg/kg) 투여시 26.15±5.30 mg/g으로 신장조직내 카드뮴 농도는 송엽 투여용량이 증가함에 따라 metallothionein의 농도는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

4. 혈청중 β_2 -microglobulin농도

Rat의 혈액에서 혈청을 분리하여 β_2 -microglobulin을 측정할 결과(table 4 참조) 카드뮴 단독 투여군은 30.14±10.15 μ l/ml 이었고, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg) 투여군은 36.83 μ l/ml, 카드뮴과 송엽 증용량(2.5 mg/kg) 투여군은 37.68±4.69 μ l/ml, 카드뮴과 송엽 고용량 투여군(5.0 mg/kg)은 39.70±8.79 μ l/ml로 송엽 투여용

Table 4. β_2 -microglobulin in serum after 12th weeks treated with cadmium chloride and pine leaf.

구 분	β_2 -microglobulin in serum
Group I Control	60.01± 7.41
Group II CdCl ₂ (4 mg/kg)	30.14±10.15
Group III CdCl ₂ (4 mg/kg)+ Pine Leaf(0.5 mg/kg)	36.83±10.51
Group IV CdCl ₂ (4 mg/kg)+ Pine Leaf(2.5 mg/kg)	37.68± 4.69
Group V CdCl ₂ (4 mg/kg)+ Pine Leaf(5.0 mg/kg)	39.70± 8.79

량이 증가함에 따라 혈청중 β_2 -microglobulin의 농도가 통계적으로 유의하게 증가하는 것으로 나타났다.(p<0.05)

5. 혈액학적 변화

카드뮴과 송엽 추출물 투여에 의한 혈액학적 효과를 측정할 결과는 table 5과 같다. 혈액중 적혈구(RBC) 농도는 카드뮴 단독투여시 $8.67 \times 10^6/\mu$ l 이었으나, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg), 증용량(2.5 mg/kg), 고용량(5.0 mg/kg) 병용투여시 $8.86 \times$

106/ μ l, 9.46 \times 106/ μ l, 10.17 \times 106/ μ l으로 송엽 투여 용량이 증가함에 따라 적혈구의 수치가 점차 증가하는 경향을 보여주었으며 hemoglobin 및 hematocrit의 수치도 역시 송엽 투여용량의 증가에 따라 통계적으로 유의하게 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 백혈구(WBC)의 수치는 차이를 보이지 않았다.

6. 광학 현미경 관찰

간에서 광학현미경적 관찰은 대조군의 경우 간소엽사이에 핵은 둥글고, 중앙에 위치하며 다각형인 정상인 간세포가 관찰되었고(Photo.1), 카드뮴 투여군은 소엽구조가 흐트러지고, 간문맥내 염증세포침윤(portal inflammation), 중심정맥확장은 뚜렷이 보였으나 간세포괴사는 미약하였다(Photo.3)

송엽 추출물 저용도 투여군에서는 담관을 중심으로 난핵구 침윤 및 문맥확장, 변성된 간세포가 보여 카드뮴 투여군과 차이가 없었으나(Photo. 5) 중간농

Table 5. Hematopoiesis of blood after 12th week treated with cadmium chloride and pine leaf.

구 분	WBC($\times 10^3/\mu$ l)	RBC*($\times 10^3/\mu$ l)	HGB*($\times 10^3/\mu$ l)	HCT*(%)
Group I Control	12.37 \pm 7.45	8.06 \pm 1.04	15.42 \pm 1.50	43.6 \pm 4.17
Group II CdCl ₂ (4 mg/kg)	8.60 \pm 2.99	8.67 \pm 1.08	14.64 \pm 1.73	41.76 \pm 5.14
Group III CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(0.5 mg/kg)	12.17 \pm 6.90	8.86 \pm 0.72	13.63 \pm 0.92	39.07 \pm 2.98
Group IV CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(2.5 mg/kg)	8.60 \pm 4.99	9.46 \pm 2.07	15.67 \pm 4.24	43.43 \pm 9.03
Group V CdCl ₂ (4 mg/kg)+Pine Leaf(5.0 mg/kg)	8.00 \pm 2.75	10.17 \pm 1.26	16.98 \pm 2.84	48.34 \pm 7.57

* : P<0.05



Photo. 1 Photomicrograph of the Liver of Control Rat. (x100)

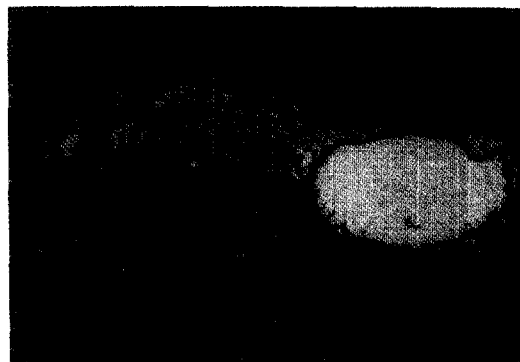


Photo. 3 Photomicrograph of the Liver of Rat treated with CdCl₂ 4.0mg/kg (x100)

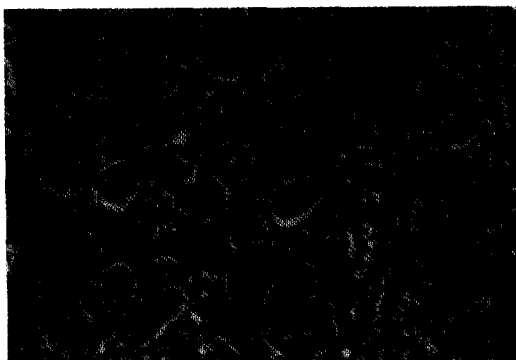


Photo. 2 Photomicrograph of the Kidney of Control Rat. (x100)

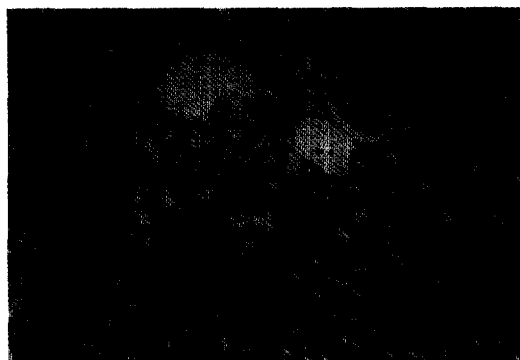


Photo. 4 Photomicrograph of the Kidney of Rat treated with CdCl₂ 4.0mg/kg (x100)

도에서는 일부 중심정맥확장 및 경도의 염증이 나타나 저농도일때보다 간세포손상이 감소되었으나 (Photo.7), 고농도인 경우 간세포 손상이 가장 적게 관찰되었다.(Photo. 9)

대조군 신장은 Photo.2에서 처럼 피질(cortex)과 수질(medulla)의 두층으로 구분되며 사구체, 근위세관 및 원위세관등이 정상소견을 보였고, 카드뮴 투여군은 Photo.4와 같이 수질층전체와 피질층의 사구체는 특이한 변화가 없었으나 근위 및 원위세뇨관의 피사 및 파괴와 주위간질조직의 염증세포 침윤이 나타났다. 송엽 추출물 저농도 투여군 신장 세뇨관 상피세포의 부종, 피층에 경도의 염증세포 잔존, 혈관총혈이 카드뮴 투여군과 유사한 정도로 나타나 해독작용이 거의 없었다(Photo.6)

송엽 추출물 중간 농도 투여(Photo. 8)군의 경우 염증세포침윤은 거의 사라졌으나, 세뇨관 수축 및

울혈이 잔존되었으나 고농도의 경우 저농도보다 신장세포손상이 현저히 감소하여 혈관총혈이외에는

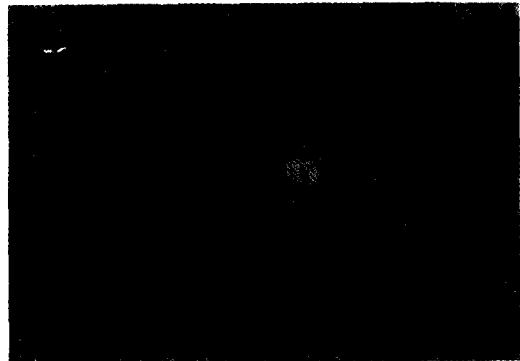


Photo. 7 Photomicrograph of the Liver of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Pine Leaf 2.5 mg/kg.(x100)



Photo. 5 Photomicrograph of the Liver of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Pine Leaf 0.5 mg/kg.(x100)



Photo. 8 Photomicrograph of the Kidney of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Pine Leaf 2.5 mg/kg.(x100)



Photo. 6 Photomicrograph of the Kidney of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Pine Leaf 0.5 mg/kg.(x100)

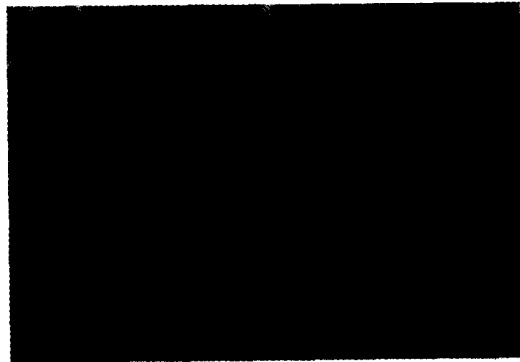


Photo. 9 Photomicrograph of the Liver of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Pine Leaf 5.0 mg/kg.(x100)



Photo. 10 Photomicrograph of the Kidney of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Pine Leaf 5.0 mg/kg.(x100)

유독성이 거의 없었다(Photo. 10).

IV. 고 찰

Cadmium은 생체내에 들어오면 축적되기 쉽고 사람의 건강을 해칠뿐 아니라 동식물을 포함하는 자연 생태계 전반에 영향을 줄 수 있기 때문에 보건학적으로 대단히 중요하게 다루고 있다.²⁶⁾

한약재를 이용한 중금속해독에 관한 최근 연구로는 이²⁶⁾가 감두탕이 DDVP 급성중독과 鉛中毒에 예방효과가 있다고 보고하였으며, 이²⁵⁾는 자연산물을 이용한 니켈독성의 해독에 관한 연구에서 양금화와 알로에가 니켈해독을 기대할 수 있다고 보고하였으며, 이²⁷⁾는 니켈 급성중독에 인삼사포닌이 니켈 독성에 대한 방어효과의 기능성을 확인 할 수 있다고 보고하였다.

또한 cadmium 독성에 대한 연구로는 Worker 등³⁰⁾에 의하여 보고되었는데, 비타민 D와 칼슘함량이 적은 사료를 병아리에게 경구투여한 결과 위장관을 통한 cadmium 흡수가 증가함을 관찰하여 식이중 칼슘량이 cadmium 축적량을 감소시킨다고 하였으며, 이²⁹⁾는 수종(감초, 측백나무, 감나무, 줄참나무, 소나무, 밤나무, 상수리, 쑥)의 한약재를 생쥐에 투입한 결과 cadmium중독 경감효과가 있다고 보고하였다. 그밖에 이²⁵⁾는 복령이 신장에 축적된 cadmium량 감소에 영향을 미친다고 보고하였으며, 임³⁸⁾은 우유가, 이²⁸⁾은 미나리가, 안 등⁴⁰⁾은 부추가 각각 cadmium 독성을 감소시킨다고 연구한 바 있다.

실험동물의 체중변화는 중금속에 폭로시 개체의

형태적, 기능적, 장애를 추정하는 독성 평가시 중요한 방법중의 하나로서 Ralph⁴¹⁾는 니켈 투여시 투여량에 비례하여 실험동물의 체중이 減少함을 보고하였고, Dieter 등⁴²⁾은 니켈 투여가 체중의 감소와 더불어 간장, 신장, 비장 그리고 흉선의 무게를 감소시킴을 보고하였다.

본 연구에서는 대조군과 카드뮴 단독투여군 카드뮴과 송엽(CdCl₂ 4 mg/kg), 카드뮴과 송엽(0.5 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg) 병용투여군의 체중변화를 실험초기에서 12주까지 매주 측정된 결과는 카드뮴 단독 투여군과 카드뮴 및 송엽 병용투여군 모두 실험 4주 후까지는 체중에 변동이 없이 약간 감소했지만, 실험 8주후 부터는 실험초기에 비해 증가하는 경향을 보이고 있다. 실험군 별로 비교하면 카드뮴 단독 투여군에 비해 카드뮴과 송엽 고용량(5.0 mg/kg) 병용투여군에서는 체중증가율에서 큰차이를 보이지 않고 있지만, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg), 카드뮴과 송엽 중용량(2.5 mg/kg) 투여군은 뚜렷한 증가 추세를 보이고 있다.

유 등⁴³⁾은 백서를 이용하여 인삼사포닌이 cadmium의 면역독성에 미치는 영향에서 cadmium 1 mg/kg을 투여한 군과 cadmium과 인삼사포닌 10, 50, 100 mg/kg을 혼합하여 8주간 투여하여 체중변화를 관찰한 결과 모든 실험군이 2주째에 매우 적은 체중증가를 나타냈고 5주째에는 군 간의 차이를 나타냈으나 6주이후부터 차이가 적어 본 실험의 결과와 일치하였다. 그러나 車⁴⁵⁾의 연구결과에 의하면 cadmium 0.5 mg/kg를 복강내 투여하여 12주간 관찰한 결과 생리식염수 투여군에 비하여 체중감소가 있었음을 확인해 본 실험과 다른 결과를 보고하였다. 이는 실험기간, cadmium 투여량, 실험재료, 실험조건 등의 차이로 기인되지 않나 생각되며, 송엽 추출액과 체중변화에 대한 정확한 관계를 규명해야 할 것이라고 사료된다.

조직내 cadmium 농도를 살펴보면 간장에서 송엽 투여용량에 비례하여 cadmium 농도가 유의한 감소 ($P < 0.05$)를 나타냈는데, 이런 결과는 안⁴⁰⁾과 유 등,⁴⁴⁾ 姜 등⁴⁶⁾의 실험결과와 일치하였다. 본 실험에서 간장조직내 metallothionein의 농도는 송엽추출액의 투여용량이 증가함에 따라 유의($P < 0.05$)하게 증가하였는데, 이는 이²⁵⁾의 보고와 일치하였으나, 정⁴³⁾의 보고와는 상이 하였으며 신장조직내 metallothionein 농도도 간장조직에서와 같은 경향을 보였다. 이는 Michael⁴⁸⁾ 등의 투여물질과 체내조직에

따라 metallothionein 생성량이 크게 변화된다는 연구결과와 일치하며, 송엽추출액이 간장에서 cadmium을 저장, 운반, 대사시킴으로써 cadmium 중독에 대한 방어효과^{49,51)}를 나타내는 것으로 사료된다. Wilson 등에 의하면 Anamia는 카드뮴을 식이시킨 실험동물들의 2세에서 나타나는 보편적 현상임을 보고 하였고, 동물에 식이후 감소된 haemoglobin농도와 감소된 haematocrit치는 카드뮴 중독의 초기 징후라고 보고하였다.

본 실험에서는 hemoglobin 및 hematocrit, 적혈구(RBC)등 혈액학적 측정치가 송엽 투여용량이 증가함에 따라 적혈구의 수치가 점차 증가하는 경향을 보여주었다. 그러나 백혈구(WBC)의 수치는 차이를 보이지 않았다.

이상에서 살펴본 바, 송엽 추출물이 간장과 신장에서 cadmium 축적량의 감소와 간장에서 metallothionein의 함량을 증가하는 경향을 보여주었으며, 간장과 신장에서 조직학적 회복능력이 있는 것으로 판단된다. 그러나 송엽 추출물의 어느 성분에 의해서 cadmium 축적량이 감소되었는지는 알 수 없었으며, 향후 송엽 추출액의 성분을 분석하여 cadmium과 착물을 형성하는 물질을 분리함으로써 그 기전을 규명할 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

카드뮴 독성에 대한 송엽 추출물의 효과를 알기 위해 흰쥐를 대상으로 카드뮴(4 mg/kg)과 송엽 추출물(0.5 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg)을 사료에 혼합하여 12주간 식이시켜 체중의 변화, 간장, 신장 조직내 카드뮴 축적량, metallothionein량, 혈청중 β_2 -microglobulin량, 백혈구, 적혈구, hemoglobin, hematocrit值등을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중변화를 관찰한 결과 카드뮴 단독 투여군에 비해 카드뮴과 송엽 고용량(5.0 mg/kg) 병용투여군에서는 체중증가율에서 큰차이를 보이지 않고 있지만, 카드뮴과 송엽 저용량(0.5 mg/kg), 카드뮴과 송엽 중용량(2.5 mg/kg) 투여군은 뚜렷한 증가 추세를 보이고 있다.

2. 조직내 카드뮴 농도는 간장, 신장조직에서 카드뮴 단독 투여군에 비해 카드뮴과 송엽 병용투여군에서 낮은 축적량을 보였고, 송엽추출물 투여 용량이 증가함에 따라 카드뮴농도가 통계적으로 유의하

게 감소하는 것으로 나타났다.($p<0.05$)

3. 조직에서 metallothionein농도를 측정한 결과 신장조직의 경우 송엽 추출물의 투여 용량이 증가함에 따라 카드뮴 단독 투여군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았으나, 간장조직에서는 통계적으로 유의한 차이를 보였다.($p<0.05$)

4. 혈청중 β_2 -microglobulin은 송엽 투여용량이 증가함에 따라 혈청중 β_2 -microglobulin의 농도가 통계적으로 유의하게 증가하는 것으로 나타났다.($p<0.05$)

5. 카드뮴과 송엽 추출물 투여에 의한 혈액학적 효과를 측정한 결과 송엽 투여용량이 증가함에 따라 적혈구의 수치가 점차 증가하는 경향을 보여주었으며 hemoglobin 및 hematocrit의 수치도 역시 송엽 투여용량의 증가에 따라 통계적으로 유의하게 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 백혈구(WBC)의 수치는 차이를 보이지 않았다.

6. 간장 및 신장에서 광학현미경적 관찰은 카드뮴 단독 투여군에 비하여 송엽의 투여량이 증가됨에 따라 간세포와 신장세포의 손상의 정도가 적게 관찰되었다.

참고문헌

- 1) Fassett D. W. : Metal in the environment. New York, Academic press., 1980.
- 2) Piscator M. : Kietary exposure to cadmium and health effects : Impact of environmental changes. Environm. Health Persp., 63, 127, 1985.
- 3) Degrave N. : Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effect of cadmium. Mutation Reearch, 86, 115, 1981.
- 4) Page A. L., El-Amamy M.M. and Chang A.C. : Cadmium in the environment and its entry into terrestrial food chain crops. In handbook of experimental pharmacol., 80, 33, 1986.
- 5) Oh, S. H., P. D. and Deagen J. T. : J. Toxicol. Environ. Health, 7, 547, 1981.
- 6) Piscater., 1966 a ; Perterson et al., 1969 ; Peterson and Berggard, 1971; Lauwersy et al., 1974 a ; Bwrnard et al., 1976, 1982.
- 7) 上海中醫學院編 : 中草藥學, 商務印書館 香港分館, 165-167, 1975.
- 8) 周風梧主編 : 中藥學, 山東科學技術出版社, 197-198, 1981.
- 9) 常敏毅 編著 : 抗癌本草, 湖南科學技術出版社, 28-29, 1987.
- 10) 科學百科辭典出版社 : 藥草의 成分과 利用, 일월서각, 344, 1991.

- 11) 時逸人編著：中國藥物學，台聯國風出版社，78-79.
- 12) 陸昌洙外編著：韓藥의 藥理.成分.臨床應用，癸丑文化社，440-441, 1982.
- 13) 傳統醫學研究所編：本草藥材圖鑑，成輔社，201, 1994.
- 14) 陳新謙，金有豫編：新編藥物學，人民衛生出版社，198-199, 1951.
- 15) 顏正華主編：中藥學，人民衛生出版社，186-188, 1991.
- 16) 李樹猷 編著：現代中藥學(全二冊)，正中書局，277-280, 中華民國 59.
- 17) 長春中醫學院革命委員會編：吉林中草藥，吉林人民出版社，212, 1970.
- 18) 李尚仁著：本草學，修書院，523-524, 1975.
- 19) 戴新民著：中國藥材學，啓業書局，413, 中華民國，1963.
- 20) 崔樹德主編：中藥大全，黑龍江科學技術出版社，291-292, 1989.
- 21) 宋，唐慎微著：重修政和經史證類備用本草，南天書局有限公司，276, 中華民國 1965.
- 22) 明，李時珍：本草綱目，人民衛生出版社，1302, 1982.
- 23) 葉顯純主編：中醫基礎理論系列叢書 中藥學(上冊)，上海中醫學院出版社，179-181, 1988.
- 24) 江蘇新醫學院編：中藥大辭典(上冊)，上海科學技術出版社，181-183, 1977.
- 25) 李守根：茯苓을 이용한 마우스 臟器내 Cadmium 解毒에 관한 研究，圓光大學校 大學院 碩士論文，1994.
- 26) 李仙童：흰쥐에서 亞急性 鉛毒性에 대한 甘豆湯의 豫防效果에 관한 研究，서울대학교 大學院 博士學位論文，1993.
- 27) 李鐘燮：니켈 急性中毒에 對한 人蔘 사포닌의 防禦效果 研究，서울대학교 大學院 博士學位論文，1991.
- 28) Nutrient requirement of Laboratory Animals National Academy of Science：Nutrient requirements of Domestic Animal. 10, 1990.
- 29) Piscator M.：Kietary exposure to cadmium and health effect：impact of environmental changes, Environ. Health Persp., 63, 127, 1985.
- 30) 中醫大辭典編纂委員會編：中醫大辭典中藥分冊，人民衛生出版社，31, 1982.
- 31) 辛民教等編：漢藥臨床應用，成輔社，160-161, 1982.
- 32) 中國本草圖錄編輯委員會：中國本草圖錄卷一，商務印書館(香港)，82, 1988.
- 33) 吳家鏡編：中藥性辭典，香港廣新出版社，85
- 34) 李仙童：DDVP急性中毒 Mouse에서 甘豆湯의 豫防效果에 관한 研究，서울대학교 保健大學院 碩士學位論文，1988.
- 35) 이기남, 유일수, 이종섭：自然産物을 利用한 니켈毒性的 解毒에 관한 研究，韓國環境衛生學會誌 20(3), 85-95, 1994.
- 36) Worker, N. A. and B. B. Mogicovsky：Effect of Vitamin D on the utilization of Zinc, Cadimium and Mercury in the chick. J. Nuir., 75, 222-224, 1961.
- 37) 이종섭, 한두석, 백승화, 유일수：마우스 장기내의 Cadmium 축적에 미치는 수중생약의 영향, Korean J. Toxicol. 10(2), 169-179, 1994.
- 38) 林國煥, 金榮煥, 金順德：白鼠의 Cadmium 中毒에 미치는 칼슘과 牛乳의 防禦效果，醫學技術論集，15(1), 68-74, 1987.
- 39) 이병설, 정문호, 두옥주：미나리에 의한 수중 중금속 Cd 와 Pb의 제거에 관한 연구, 21(1), 47-55, 1995.
- 40) 안령미, 김한태, 이희성：카드뮴독성에 대한 부추의 방어효과，한국환경위생학회지，17(2)，102-113, 1991
- 41) 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 Toxicol. and Environ. Health. 20, 67-80, 1987.
- 42) 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 Toxicol. and Environ. Health. 24, 357-372, 1988.
- 43) 정경진, 산두근 추출액이 흰쥐의 급성 Cadmium 중독에 대한 해독효과, 원광대학교 대학원 박사학위논문, 13-14, 1994
- 44) 유희영, 김영구, 정문호：인삼사포닌이 카드뮴의 변역독성에 미치는 영향 한국환경위생학회지, 18(2), 125-134, 1992.
- 45) 차철환：마늘이 백서의 중금속중독에 미치는 영향에 관한 연구, 대한보건협회지, 14(1), 3, 1988.
- 46) 姜英美, 李容旭：白鼠에서 셀레늄 및 亞鉛이 카드뮴 毒性에 미치는 影響，韓國環境衛生學會誌，16(1)，29-43, 1990.
- 47) 豫防醫學과 公衆保健 編輯委員會：豫防醫學과 公衆保健，癸丑文化社，300-302, 1978.
- 48) 李宰炯：카드뮴 毒性에 대한 흰쥐 臟器 Metallothionein 의 防禦效果에 관한 研究，慶熙大學校 大學院 博士學位論文，p. 73, 1994..
- 49) Goering P. L. and Klaassen C. D.：Tolerance to cadmium induced
- 50) Goyer R. A.：Toxic effects of metals. In Klaassen C.D., Amdur M.O. and Doull J. (eds.), Casarett and Doull's Toxicology, 3rd Ed., Macmillian Publishing Co., New York, 1986.
- 51) Dunn M. A., Blalock T. L. and Cousins R. J.：Metallothionein. Proc, Soc. Experi. Bio. Med., 185, 107, 1987.