

## 카드뮴이 랫드의 Heat Shock Protein 발현에 미치는 영향과 독성학적 변화에 관한 연구

김 판 기

용인대학교 자연과학대학 환경보건학과

## Effects of Cadmium on Heat Shock Protein Induction and on Clinical Indices in Rats

Pan-Gyi Kim

Department of Environmental Health, College of Natural Science, Yongin University,  
Yongin, 449-714, Korea

### ABSTRACT

Exposure indices are important tools which enable scientists to reliably predict and detect exposures to xenobiotics and resultant cell injury. Since the *de novo* synthesis of stress proteins can be detected early after exposure to some agents, analysis of toxicant-induced changes in gene expression, i.e. alterations in patterns of protein synthesis, may be useful to develop as biomarkers of exposure and toxicity.

The acute and chronic effects of cadmium(Cd, CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg) on Wistar male rats were evaluated concerning cadmium contents, tissues enzyme activity, HSP expression.

The results of the study were as follows:

1. Less cadmium was absorbed through the digestive tracts, but the ratio of contents in renal to hepatic cadmium was higher at 8 weeks after treatment.

2. ALT(alanine aminotransferase), AST(aspartate aminotransferase), glucose, BUN(blood urea nitrogen), creatinine, the key indices of the clinical changes in hepatic and renal function were significantly changed by the cadmium treatment after 1 week in liver, after 4 weeks in kidney.

3. Enhanced synthesis of 70 KDa relative molecular mass proteins were detected in 2 hours after cadmium exposure, with maximum activity occurring at 8~48 hours. Induction of HSP<sub>70</sub> was evident at proximal tubules and glomeruli in kidney. Testicular cells produced enough HSP to be detected normally.

From the above results, it could be concluded that HSP<sub>70</sub> induction by the cadmium treatment was a rapid reaction to indicate the exposure of xenobiotics.

**Keywords :** Cadmium toxicity, HSP<sub>70</sub>, clinical index

### I. 緒 論

카드뮴은 亞鉛鑛의 製鍊 및 精製過程에서 副産物로 生産되고 있으며, 산업발전에 따라 電氣鍍金, 塗料, 플라스틱安定劑, 合金, 蓄電池 등의 분야에서 광범위하게 사용되고 있다. 산업에의 이용이 증가함에 따른 土壤 및 水質汚染에 의해 인간은 항상 카드뮴에 暴露될 수 있는 가능성을 가지고 있다. 카드뮴은 變異原性, 發癌性, 催奇形性, 內分泌 및 生殖毒성을

나타내기도 하며, 일본 Toyama현 지역에서 발생한 바 있는 이따이-이따이병을 유발하여 腎臟 近位細尿管 損傷과 骨軟化症을 나타내기도 한다.<sup>1,2)</sup>

職業性 혹은 環境汚染에 의한 카드뮴 暴露는 다양한 臟器에서 영향을 나타내는데, 고농도의 카드뮴을 吸入함으로써 呼吸器係에 損傷을 주며, 食品·飲用水로 섭취할 때에는 15 mg/l 이상 농도에서 嘔吐와 다른 胃腸管症狀을 일으킨다.<sup>3,4)</sup> ACGIH(American Conference of Governmental Industrial Hy-

gienist)에서는 카드뮴을 發癌可能性 물질로 분류하고 작업장에서의 許容基準을 0.01 mg/m<sup>3</sup>으로 규정하고 있다.<sup>5)</sup>

카드뮴毒성을 나타내는 生化學的인 機轉은 아직까지 확실하게 밝혀지지 않았지만, 카드뮴이 體內代謝過程의 酵素活性을 억제하는 機轉과 細胞膜蛋白質중 sulfhydryl(SH)기와 結合함으로써 나타나는 細胞膜透過 및 物質移動 妨害機轉으로 설명되어지고 있다.<sup>6,7)</sup>

한편, 細胞가 最適成長溫度보다 5~10°C 높은 溫熱條件에 暴露되면 일련의 蛋白質群을 合成하는 반응을 보이는데, 이것을 스트레스蛋白質(stress proteins, SPs) 혹은 熱衝擊蛋白質(heat shock proteins, HSPs)이라고 한다. 스트레스蛋白質은 細胞質과 核부위에 산재하고 있으며, 스트레스에 의해 核과 核小體에 축적된다고 보고되었고, 포유류 細胞의 耐熱性 獲得과 관계있는 것으로 알려지고 있다. 스트레스蛋白質의 誘導物質은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaAsO<sub>2</sub>, Cd, Ethyl alcohol, 바이러스感染 등으로 알려지고 있다.<sup>8,10)</sup>

스트레스蛋白質은 HSP<sub>90</sub>, HSP<sub>70</sub>, HSP<sub>47</sub>, HSP<sub>27</sub> family 와 ubiquitin으로 구분된다. HSP<sub>70</sub> family는 細胞保護機能(chaperonin)으로 잘 알려져 있으며, HSP<sub>72</sub>는 스트레스에 의한 유도형태로, HSP<sub>70</sub>은 正常細胞發育·分化에서도 표현되는 형태로 알려지고 있다.<sup>8,10-13)</sup> 스트레스(組織損傷, 熱, 化學物質暴露, 貧血) 상태에서 70 KDa의 스트레스蛋白質 合成이 증가하며, 스트레스 조건에 대한 細胞水準의 防禦와 손상된 細胞의 恢復을 증진시키는 역할을 수행하는 것으로 보고되고 있다. 또한, 스트레스蛋白質은 酸素遊離基 생성과도 관계가 있어, 방향족 탄화수소와 光化學的大氣汚染物質 暴露에 의해서도 나타날 수 있으며, 酸化에 의한 細胞內 蛋白質變性を 復舊 혹은 防禦하는 역할을 수행하는 것으로 여겨지고 있다.<sup>8,14,15)</sup>

Goering 등<sup>16)</sup>은 CdCl<sub>2</sub> 投與 後에 나타나는 細胞損傷에 관한 生物學的 指標로서 腎臟의 스트레스蛋白質 遺傳子 發顯의 변화를 실험하였다. 카드뮴 投與 後 4시간에 스트레스蛋白質群인 70, 90, 110 KDa의 蛋白質 합성이 증가되어, 카드뮴에 대한 細胞損傷의 指標로서 스트레스 蛋白質의 역할을 제시하였다.<sup>16)</sup>

카드뮴暴露에 대한 生物學的 指標로서 가장 중요하게 여겨지는 것은 尿中 카드뮴含量으로서, 노중 카드뮴의 증가는 체내에서 MT와 結合하여 포화가 되었을 때 최근의 暴露量, 신체적 부담 및 腎臟카드뮴 농도를 반영하는 指標가 된다. 노중의 NAG(N-acetyl-β-D-

glucosamidase), transferrin, protein 1 그리고 血中の creatinine, BUN(blood urea nitrogen)등이 카드뮴에 의한 腎臟毒性的 指標로 사용되고 있다. 또한, 레티놀 結合蛋白質은 近位細尿管 기능검사에서 β<sub>2</sub>-microglobulin보다 노중 安定성과 검사법의 敏感度에서 더 현실적이고 믿을 만한 검사로 평가되고 있으며, 이외에 총단백량, 尿糖, MT, Cu 등을 측정함으로써 카드뮴暴露를 간접적으로 알 수 있다. 그러나, 이런 指標物質들은 모두 카드뮴에 의한 腎臟損傷에 의해 再吸收機能不全이 나타나고, 이에따라 노중에 排泄되는 저분자량의 蛋白質 등을 측정하게 되는 원리로서 생체조직의 損傷이전에 카드뮴暴露를 보고할 수 있는 指標는 사실상 없는 실정이다.<sup>2,17,18)</sup>

따라서, 본 실험에서는 첫째, 카드뮴暴露에 대한 細胞水準의 初期反應으로서 HSP<sub>70</sub>의 發顯時期를 확인하고, 둘째, 이때의 카드뮴暴露 水準을 파악하며, 셋째, HSP<sub>70</sub>이 發顯되는 機能的 構造를 밝히고자 수행하였다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 實驗材料

#### 1) 實驗動物

실험동물은 국립보건안전연구원에서 사육하고 있는 特定病原體 不在(Specific Pathogen Free) 슿컷 Wistar 랫드를 사용하였으며, 실험실 사육조건은 明暗 12시간 교대(조명시간 06:00~18:00), 환기회수 12~15 회/시간, 溫度 22±2°C, 相對濕度 55±5 %가 유지되는 조건에서 실험을 실시하였으며, 실험기간 중 수도물과 실험동물용 고형사료(신촌사료<주>)는 자유로이 給食토록 하였다. 실험시작시에 8주령 동물을 공급받아 실험실에서 1주 이상 실험실 環境에 適應시킨 후 실험에 사용하였다.

#### 2) 試驗物質 및 投與

實驗群 설정과 사용 랫드 마리수를 Table 1에 제시하였다. 카드뮴은 CdCl<sub>2</sub>(Cd, Sigma Co, USA)로서 20 mg/kg을 주 6회 증류수에 용해하여 經口投與(p.o.)하였다. 投與用 試藥은 실험전에 조제하여 사용하였다. 카드뮴 投與 後 1, 2, 4, 8, 16, 24시간과 2, 4, 7일, 2, 4, 8, 16주에 혈액을 채취하고 剖檢하여, 肝臟, 腎臟, 辜丸을 摘出した 후 실험방법에 기술한 내용으로 보관 및 처리하였다. CdCl<sub>2</sub>는 豫備實驗을 통하여 肝臟, 腎臟, 辜丸에서 HSP<sub>70</sub> 發顯이 증가되는 최소용량을 설정하였다.

**Table 1.** Experimental design for group allocation and chemical treatments (unit : number of rats)

Time Group	Hour				Day				Week				Total	
	1	2	4	8	16	1	2	4	1	2	4	8		16
Control	10	10	10	10	10	10	9	6	6	6	6	6	6	105
Cd	10	10	10	10	10	10	10	11	11	8	9	8	9	126

Cd : Cadmium chloride 20 mg/kg in distilled water  
6~11 animals were sacrificed on each necropsy.

## 2. 實驗方法

### 1) 臟器組織中的 카드뮴含量 分析

肝臟, 腎臟, 辜丸 및 血液에 대한 前處理는 Goring 등<sup>21)</sup>의 방법에 따라 각 장기 조직 50 mg/ml HCl을 넣어 24시간 消化시킨 후 3,000 g 10분간 遠心分離하여 上層液을 취하였다. 이 상층액을 Inductively Coupled Plasma (Jobin Yvon Co. France)로 카드뮴含量을 測定하였다. 이때 분석 조건은 가스流速 0.3 l/min, 시료주입속도 1 ml/min, Rf power 65 V로 하였다.

### 2) 血液中的 毒性指標物質의 測定

剖檢 1일 前부터 絶食시킨 랫드로부터 血液 中の 酵素 測定을 위해 心臟으로부터 血液을 採取하여 냉장상태로 실험실로 이동하고, 냉장고에 3~5시간 정도 방치한 후 冷蔵遠心分離機로 3600 rpm에서 30분 처리하였다. 血清을 시험관에 담아 분석할 때까지 냉동실(-70°C)에 보관하였다. AST(aspartate aminotransferase, GOT), ALT(alanine aminotransferase, GPT), glucose, BUN(blood urea nitrogen), creatinine을 Technicon RA-XT random access chemistry analyzer(Technicon Instruments Corporation, Tarrytown, NY, USA)로 측정하였다.

### 3) HSP 發顯 檢出

#### (1) HSP 蛋白質 檢出

부검할 때 채취한 각 장기조직은 호모제나이저(Homogenizer, Omni International, USA)로 均質化하고 냉장상태에서 16,000 g로 30분간 원심분리하였다. 상층액(cytosol 分劃)을 채취하여 냉동실(-72°C)에 보관하고, 냉장상태에서 완전히 해동하여 분석에 사용하였으며, 샘플내의 蛋白質含量을 Bradford분석법으로 측정하여 同量의 蛋白質이 사용되도록 하였다. 蛋白質을 전기영동(polyacrylamidegel electrophoresis)하였으며 니트로셀룰로스膜에 轉移하여, 이 膜을 HSP 抗體와 반응시켰다. 여기에 2차 抗體를 반응시키고 螢光發光體를 붙여 發色시킨 다음

X-선 필름에 감광시켜 HSP의 發顯程度를 분석하였다.<sup>16,19)</sup>

#### (2) 免疫組織化學的 觀察

적출한 장기를 중성포르말린액에 충분히 固定하였다. 고정된 조직은 細切後 2차 고정하고 ethyl alcohol 및 xylene으로 처리한 후 파라핀으로 包埋하였다. Poly-L-Lysine으로 처리한 슬라이드에 4~5 μm의 組織薄片을 부착시킨 후 免疫染色을 실시하였다. 파라핀을 제거하고 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 과잉의 內因性 過酸化酵素 활성을 제거한 다음, 희석된 正常血清으로 非特異染色을 제거하였다. 4°C 냉장상태에서 HSP抗體(HSP70, StressGen)와 48시간 배양한 후 PBS에 충분히 세척하였다. Biotin結合된 2차 抗體에 1시간 배양하고 PBS로 씻어준 후 avidin-biotin peroxidase 重合體(Vector, USA)와 반응시킨 후 0.1% DAB(diaminobenzidine)으로 發色하였다. 발색된 슬라이드는 깨끗이 세척한 후 Hematoxylin으로 배경염색하여 관찰하였다.

## III. 結 果

### 1. 體重의 變化

랫드에 카드뮴(Cd)을 投與한 결과, 投與 1일 후부터 간혹 泄瀉 및 웅크리고 있는 증상이 보였고, 동물의 털에 윤기가 없어지고 직립하는 증상을 보였다. 카드뮴 投與期間 동안의 체중의 變化를 Table 2에 나타내었다. 카드뮴을 投與하였을 때, 投與 1주 후부터 각 投與群에서 체중증가 鈍化現象을 보였다.

### 2. 主要臟器의 카드뮴含量

#### 1) 血液中的 카드뮴量의 變化

Table 3에서 보는 바와 같이, 증류수를 投與한 對照群의 全血中の 카드뮴含量 0.003~0.034 μg/g을 전 실험기간 동안 유지하였다.

**Table 2.** Body weight changes in rats given oral CdCl<sub>2</sub> during 16 weeks (unit : g)

Group	Week	Control	Cd
	0	272±41.8	305±54.2
	1	284±28.3	305±54.2
	2	319±18.0	291±13.6*
	3	307±19.0	303±35.2
	4	353±26.4	319±22.3*
	5	370±30.6	335±35.4*
	6	376±41.3	349±36.7
	7	403±39.0	350±38.2*
	8	400±45.4	375±42.3
	9	438±48.1	388±35.2*
	10	449±49.5	426±37.0
	11	456±42.7	420±35.7
	12	456±54.6	446±47.6
	13	472±47.2	428±50.7
	14	474±52.3	433±47.8
	15	480±56.0	447±51.1
	16	494±43.5	467±55.3

Each value represents the mean±S.D. for 6-126 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 days a week)

\* : statistically different from control group (p<0.05)

**Table 3.** Cadmium contents in whole blood of rats treated with cadmium for 16 weeks (unit : µg/g w.w.)

	Control	Cd
1 hour	0.003±0.005	0.004±0.005
2 hours	0.004±0.005	0.059±0.051
4 hours	0.004±0.005	1.256±0.338
8 hours	0.004±0.005	0.827±0.211
16 hours	0.003±0.005	0.579±0.141
1 day	0.004±0.005	0.144±0.228
2 days	0.004±0.005	1.140±0.059
4 days	0.005±0.005	1.277±0.225
1 weeks	0.005±0.004	1.577±0.658
2 weeks	0.008±0.016	1.708±0.494
4 weeks	0.010±0.011	2.098±0.657
8 weeks	0.020±0.021	2.480±0.267
16 weeks	0.034±0.011	2.917±0.219

Each value represents the mean±S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg (6 times a week)

시험물질 投與群중 Cd群은 投與 2시간 後부터 血中の 카드뮴含量이 0.059 µg/g으로 증가하기 시작하여 4시간 後에 1.256 µg/g으로 最高濃度에 이르고, 다음 投與가 있기 전까지 계속 감소하여 24시간에 0.144 µg/g 이었다. 그후 反復投與에 의해 혈액

**Table 4.** Cadmium contents in liver of rats treated with cadmium for 16 weeks (unit : µg/g w.w.)

Group	Time	Control	Cd
	1 hour	0.004±0.005	0.006±0.005
	2 hours	0.007±0.005	0.093±0.048
	4 hours	0.007±0.008	0.685±0.077
	8 hours	0.007±0.008	1.108±0.153
	16 hours	0.007±0.008	1.995±0.228
	1 day	0.003±0.005	2.900±0.339
	2 days	0.007±0.008	4.247±0.265
	4 days	0.007±0.008	7.607±0.494
	1 weeks	0.012±0.012	13.04±1.63
	2 weeks	0.032±0.015	24.84±4.51
	4 weeks	0.192±0.044	46.40±5.40
	8 weeks	0.277±0.040	86.37±19.02
	16 weeks	0.377±0.088	173.5±19.4

Each value represents the mean±S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 times a week)

중 카드뮴含量이 점차로 증가하여 2일에 1.140 µg/g, 16주에는 2.917 µg/g의 농도를 나타내었다.

#### 2) 각 臟器의 의 카드뮴含量 變化

Table 4에서와 같이, 對照群 랫드 肝臟의 카드뮴含量은 전 실험기간 동안 0.003~0.377 µg/g이었으며, 시간경과에 따라 증가하였다. Cd群은 投與 2시간後부터 肝臟조직중의 카드뮴含量이 0.093 µg/g으로 증가하였고, 反復投與에 의해 계속 증가하여 投與 16주에는 173.5 µg/g이 檢出되었다. Table 5에 腎臟의 카드뮴含量을 제시하였다. 對照群 腎臟의 카드뮴含量은 전 실험기간 동안 0.003~0.467 µg/g이었으며, 시간경과에 따라 腎臟내 카드뮴은 증가하였다. Cd群은 投與 後 4시간부터 腎臟내 카드뮴含量이 증가하기 시작하여(0.197 µg/g), 投與 16주에는 200.9 µg/g의 含量을 보였다. 辜丸의 카드뮴含量을 Table 6에 나타내었다. 對照群의 辜丸 카드뮴含量은 전 실험기간 동안 0.002~0.072 µg/g이었으며, 시간 경과에 따라 증가하는 경향을 보였다. Cd群에서는 投與 後 4시간에 0.037 µg/g의 카드뮴이 檢출된 이후 辜丸의 카드뮴含量이 꾸준히 증가하여 投與 16주에는 6.221 µg/g의 농도를 보였다. 時間經過에 따른 臟器別 카드뮴含量 변화는 각 投與群에서 유사한 경향을 나타냈으므로 Cd群의 결과만을 살펴보면 다음과 같다. 投與 4시간 後 血中에 1.256 µg/g으로 최고농도에 도달하였으며, 이후 反復投與의 시험물질이 吸收되기 전까지 농도가 감소하여 24시간 후에는 0.144 µg/g이 되었다. 반

**Table 5.** Cadmium contents in kidneys of rats treated with cadmium for 16 weeks

(unit : $\mu\text{g/g w.w.}$ )			
Group	Time	Control	Cd
1 hour		0.003 $\pm$ 0.005	0.005 $\pm$ 0.005
2 hours		0.005 $\pm$ 0.005	0.003 $\pm$ 0.005
4 hours		0.005 $\pm$ 0.005	0.197 $\pm$ 0.069
8 hours		0.007 $\pm$ 0.008	0.390 $\pm$ 0.068
16 hours		0.005 $\pm$ 0.005	0.830 $\pm$ 0.096
1 day		0.007 $\pm$ 0.008	1.432 $\pm$ 0.212
2 days		0.012 $\pm$ 0.016	2.828 $\pm$ 0.308
4 days		0.007 $\pm$ 0.008	4.522 $\pm$ 0.605
1 weeks		0.015 $\pm$ 0.010	10.98 $\pm$ 0.96
2 weeks		0.035 $\pm$ 0.019	21.98 $\pm$ 1.66
4 weeks		0.153 $\pm$ 0.032	45.55 $\pm$ 5.73
8 weeks		0.355 $\pm$ 0.065	103.9 $\pm$ 18.22
16 weeks		0.467 $\pm$ 0.101	200.9 $\pm$ 16.3

Each value represents the mean $\pm$ S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 times a week)

**Table 6.** Cadmium contents in testis of rats treated with cadmium for 16 weeks

(unit : $\mu\text{g/g w.w.}$ )			
Group	Time	Control	Cd
1 hour		0.002 $\pm$ 0.004	0.004 $\pm$ 0.005
2 hours		0.004 $\pm$ 0.005	0.006 $\pm$ 0.005
4 hours		0.003 $\pm$ 0.005	0.037 $\pm$ 0.033
8 hours		0.005 $\pm$ 0.008	0.083 $\pm$ 0.030
16 hours		0.005 $\pm$ 0.005	0.115 $\pm$ 0.029
1 day		0.003 $\pm$ 0.005	0.210 $\pm$ 0.026
2 days		0.004 $\pm$ 0.005	0.444 $\pm$ 0.078
4 days		0.005 $\pm$ 0.005	0.805 $\pm$ 0.088
1 weeks		0.007 $\pm$ 0.010	1.438 $\pm$ 0.655
2 weeks		0.028 $\pm$ 0.019	2.055 $\pm$ 0.425
4 weeks		0.038 $\pm$ 0.015	2.747 $\pm$ 0.479
8 weeks		0.052 $\pm$ 0.019	3.846 $\pm$ 0.438
16 weeks		0.072 $\pm$ 0.032	6.221 $\pm$ 0.591

Each value represents the mean $\pm$ S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 times a week)

복투여한 시험물질이 흡수되어 2일째의 혈중 카드뮴 농도는 1.140  $\mu\text{g/g}$ 이었으나, 급격한 증가는 나타나지 않아 16주의 혈중 카드뮴농도는 2.917  $\mu\text{g/g}$ 에 머물렀다. 투여 후 2주까지는 肝臟의 카드뮴함량(24.84  $\mu\text{g/g}$ )이 腎臟보다(21.98  $\mu\text{g/g}$ ) 높았으나, 4주에는 肝臟 46.40  $\mu\text{g/g}$ , 腎臟 45.55  $\mu\text{g/g}$ 으로 비슷하여지고, 8주 부터는 肝臟의 카드뮴함량 86.37  $\mu\text{g/g}$  보다 腎臟이 103.9  $\mu\text{g/g}$ 으로 더 높아지는 것으로 나타났다. 한

**Table 7.** Serum ALT activity in rats treated with cadmium for 16 weeks (unit : mU/ml)

Group	Time	Control	Cd
1 hour		36.2 $\pm$ 7.88	33.3 $\pm$ 8.59
2 hours		37.0 $\pm$ 12.49	39.0 $\pm$ 8.88
4 hours		38.3 $\pm$ 9.46	30.2 $\pm$ 8.80
8 hours		40.5 $\pm$ 9.20	36.3 $\pm$ 8.33
16 hours		36.0 $\pm$ 10.00	33.5 $\pm$ 14.00
1 day		40.5 $\pm$ 9.50	35.0 $\pm$ 11.38
2 days		34.7 $\pm$ 7.99	39.5 $\pm$ 7.77
4 days		40.3 $\pm$ 10.58	45.0 $\pm$ 11.76
1 weeks		44.2 $\pm$ 8.93	65.2 $\pm$ 15.82*
2 weeks		41.7 $\pm$ 12.45	91.3 $\pm$ 14.82*
4 weeks		44.3 $\pm$ 9.24	173.2 $\pm$ 24.25*
8 weeks		37.2 $\pm$ 10.92	194.5 $\pm$ 43.70*
16 weeks		41.8 $\pm$ 10.13	198.3 $\pm$ 50.71*

Each value represents the mean $\pm$ S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 times a week)

\* : statistically different from control group (p<0.05)

편, 카드뮴 투여 2주의 辜丸의 카드뮴함량은 6.221  $\mu\text{g/g}$ 으로 혈액중 카드뮴함량 1.708  $\mu\text{g/g}$  보다 높아졌으며 16주에 6.221  $\mu\text{g/g}$ 로 계속 증가하였다.

### 3. 血清의 毒性指標物質의 變化

肝臟의 손상정도를 표현하는 효소로서 ALT와 AST活性도를 측정하였고, 糖代謝의 영향을 파악하기 위하여 glucose함량을, 腎臟損傷 정도를 알기 위하여 BUN과 creatinine함량을 측정하였다.

#### 1) ALT, AST 活性度 變化

ALT活性도를 Table 7에 나타내었다. ALT活性도는 實驗 全期間에 걸쳐 對照群은 34.7~44.3 U/l 수준을 유지하고 있었으나, Cd群은 4일째에 45.0 U/l을 나타내고, 1주후 부터 65.2 U/l로서 對照群에 비해 유의한 증가를 보이고(p<0.05), 투여 2, 4, 8, 16주에도 계속 유의하게 증가하였다(p<0.05). Table 8에 AST의 活性도를 나타내었다. AST 活性도의 변화는 對照群에서 全 實驗期間 동안 81.7~113.8 U/l 정도의 수준을 보였으나, Cd群에서는 1주부터 144.7 U/l로 유의한 증가를 보였다(p<0.05).

#### 2) Glucose의 變化

Glucose의 혈중농도를 Table 9에 제시하였다. Glucose 血中濃度는 對照群에서 全 實驗期間 동안 104.2~120.8 mg/dl 였으나, Cd群에서 투여 2주 후 부터 glucose 수준이 저하되기 시작하여 8주 후부터는 77.5 mg/dl로 유의성 있는 감소가 인정되었다

**Table 8.** Serum AST activity in rats treated with cadmium for 16 weeks (unit : mU/ml)

Group	Time	Control	Cd
1 hour		93.2±22.18	79.5±25.59
2 hours		81.7±17.40	81.3±14.50
4 hours		93.3±23.87	93.0±20.26
8 hours		88.7±17.80	90.3±22.40
16 hours		95.0±26.88	96.8±21.21
1 day		106.5±18.71	98.7±28.21
2 day		90.3±16.82	96.7±23.41
4 day		94.8±20.36	99.8±40.29
1 weeks		105.0±28.04	144.7±31.47*
2 weeks		108.8±25.31	184.7±33.22*
4 weeks		99.8±16.80	235.5±70.15*
8 weeks		109.8±26.51	246.3±101.0*
16 weeks		113.8±17.59	307.3±91.84*

Each value represents the mean±S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 times a week)

\* : statistically different from control group (p<0.05)

**Table 9.** Serum glucose contents in rats treated with cadmium for 16 weeks (unit : mg/dl)

Group	Time	Control	Cd
1 hour		109.0±21.18	108.3±15.81
2 hours		113.2±16.24	124.8±10.94
4 hours		104.2±16.76	110.7±24.90
8 hours		120.7±16.91	109.8±25.89
16 hours		113.2±20.32	106.3±18.44
1 day		108.3±20.26	108.5±30.59
2 day		11.2 ±19.79	112.2±22.36
4 day		113.0±19.48	108.5±38.25
1 weeks		118.3±13.14	123.7±15.65
2 weeks		114.2±17.13	103.7±17.52
4 weeks		115.2±23.72	101.2±16.07
8 weeks		113.8±21.93	77.5±11.33*
16 weeks		120.8±30.29	74.7±9.69*

Each value represents the mean±S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 times a week)

\* : statistically different from control group (p<0.05)

(p<0.05). 카드뮴이 ALT, AST活性도에 변화를 주는 것은 카드뮴을 1주동안 投與하였을 때였으며, glucose含量은 投與 8주에 유의한 감소를 보였다 (p<0.05). 카드뮴投與 1주일 이후에 肝細胞에 영향을 미치며 8주 후부터는 糖代謝에도 영향을 나타내는 것으로 나타났다.

### 3) BUN, creatinine의 變化

腎臟損傷 指標의 하나로서 측정된 혈중 BUN농도

**Table 10.** Serum BUN contents in rats treated with cadmium for 16 weeks (unit : mg/dl)

Group	Time	Control	Cd
1 hour		18.0±3.41	18.7±3.39
2 hours		19.7±2.16	18.8±4.40
4 hours		18.7±3.27	18.8±2.86
8 hours		18.5±1.87	18.2±3.06
16 hours		19.2±3.31	18.7±3.27
1 day		18.5±2.26	18.7±2.16
2 days		19.0±2.53	22.0±3.58
4 days		18.8±5.89	19.4±2.97
1 week		20.3±2.94	20.8±3.97
2 weeks		19.3±1.86	21.8±3.43
4 weeks		19.3±1.97	24.8±4.54*
8 weeks		19.7±3.39	28.5±4.64*
16 weeks		19.7±2.16	33.2±3.66*

Each value represents the mean±S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 times a week)

**Table 11.** Serum ceatinine activity in rats treated with cadmium for 16 weeks (unit : mg/dl)

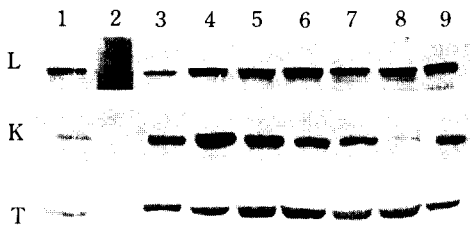
Group	Time	Control	Cd
1 hour		0.78±0.15	0.73±0.12
2 hours		0.68±0.15	0.77±0.16
4 hours		0.70±0.14	0.80±0.14
8 hours		0.77±0.08	0.75±0.19
16 hours		0.68±0.12	0.72±0.21
1 day		0.73±0.21	0.80±0.14
2 days		0.73±0.19	0.75±0.21
4 days		0.73±0.08	0.77±0.22
1 week		0.77±0.19	0.75±0.23
2 weeks		0.73±0.19	0.77±0.18
4 weeks		0.72±0.22	0.88±0.23
8 weeks		0.77±0.14	1.13±0.22*
16 weeks		0.78±0.17	1.27±0.36*

Each value represents the mean±S.D. for 6-11 animals per treatment.

Cd : CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg (6 times a week)

\* : statistically different from control group (p<0.05)

를 Table 10에 나타내었다. 전 실험기간동안 對照群에서 18.0~20.3 mg/dl의 수준을 보였으나, Cd 投與群에서는 投與 2주 후부터 21.8 mg/dl로 증가하여, 4주 후부터 24.8 mg/dl로 증가하여 통계적 유의성이 인정되었으며(p<0.05), 16주까지 33.2 mg/dl로 지속적으로 증가하였다. 血中 creatinine濃도를 Table 11에 제시하였다. 對照群에서 전 실험기간동안 0.68~0.78 mg/dl의 분포를 보였으나, Cd 群에서



**Fig. 1.** Immunoblots analysis of HSP induction in rat's organs treated with cadmium.  
L : liver, K : kidney, T : testis, Lane 1 : control, 2 : 1 hour, 3 : 2 hours, 4 : 4 hours, 5 : 8 hours, 6 : 16 hours, 7 : 24 hours, 8 : 48 hours, 9 : 72 hours after

4주 후부터 0.88 mg/d로 증가하기 시작해서 8주 후부터 1.13 mg/d로 증가의 유의성이 인정되었다 ( $p < 0.05$ ). 카드뮴投與에 의해 BUN, creatinine의 유의한 변화가 나타나는 시기는 投與後 8주였다.

**4. HSP<sub>70</sub> 發顯의 檢出**

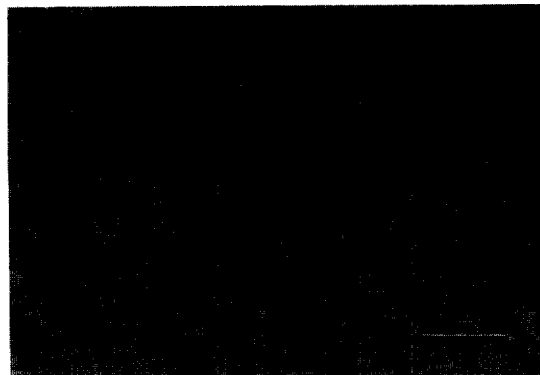
**1) HSP<sub>70</sub> 誘導現象**

카드뮴投與에 의한 HSP<sub>70</sub>의 發顯을 그림 1에 나타내었다. 카드뮴投與群의 肝臟에서는 카드뮴 投與 후 4시간부터 HSP<sub>70</sub>의 發顯 증가가 16시간까지 계속되었고, 이후 약간 감소한 상태로 72시간 까지 계속 유지되었다. 腎臟에서는 投與 후 2시간에 HSP<sub>70</sub>의 發顯이 증가하여 4시간에 최고가 되고, 이후 감소하나 24시간까지는 對照群 수준보다 發顯이 증가된 결과를 보였다. 辜丸에서는 腎臟에서와 같이 投與 후 2시간에 HSP<sub>70</sub>의 發顯이 증가되며, 48시간 후까지 증가된 상태였으나, 72시간 이후에는 원상태 수준으로 회복되었다.

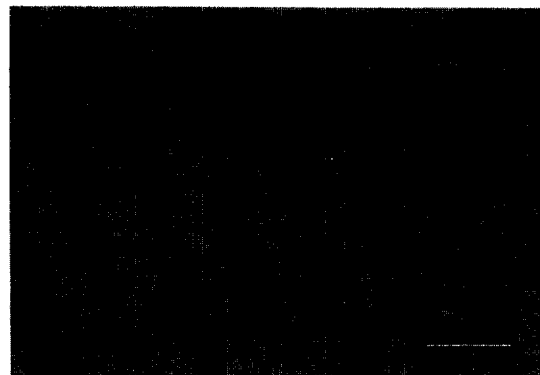
HSP<sub>70</sub>의 發顯增加가 나타나는 시기는 카드뮴 暴露後 肝臟에서 최소 4시간, 腎臟과 辜丸에서 2시간으로 肝臟보다 腎臟과 辜丸에서 HSP 반응이 신속하게 나타났다. 한편, 腎臟에서는 카드뮴 投與에 의해 2시간에 HSP의 發顯이 증가하였다.

**2) HSP<sub>70</sub> 發顯 檢査**

HSP<sub>70</sub> 抗體를 이용한 免疫組織化學的 檢査결과 카드뮴投與에 의해 肝臟에서 陽性反應은 나타나지 않았다. 카드뮴 投與 후 腎臟의 경우는 絲球體와 일부 細尿管 上皮細胞에서 양성반응을 보였다(PM 1, 2). 陽性反應을 보인 슬라이드는 모두 投與 후 24시간의 조직 표본이었다. 辜丸은 間質組織과 精細管內의 精子가 모두 陽性으로 나타났는데, 이는 對照群



**PM 1.** HSP<sub>70</sub> induction is seen in glomeruli of rat treated with CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg 24 hours after sacrifice (arrow). ABC stain, Bar : 13.8 μm



**PM 2.** Weak induction of HSP<sub>70</sub> is identified in epithelia distal tubules of rat treated with CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg 24 hours after sacrifice (empty arrows). ABC stain, Bar : 13.8 μm

의 것과 구분할 수 없을 정도였으므로 投與에 의해 새롭게 發顯된 것은 아니었다. 肝臟의 HSP 發顯은 많지 않았으며, 腎臟은 HSP 發顯部位가 絲球體, 細尿管 上皮細胞였었고, 辜丸은 정상적으로도 상당히 많은 양의 HSP가 發顯되고 있었다.

**IV. 考 察**

**1. 各 臟器組織內의 카드뮴含量**

본 실험에서 CdCl<sub>2</sub>로서 20 mg/kg을 16주간 經口投與하였을 때, 16주 후 血液中の 카드뮴含量이 2.917 μg/g, 腎臟에서 200.9 μg/g, 辜丸에서 6.221 μg/g이 검출되었으며, 投與 8주부터 카드뮴含量이 肝臟보다

腎臟에서 더 높았다. 또한 對照群에서 肝臟의 카드뮴 함유량은 16주 0.377  $\mu\text{g/g}$ , 腎臟 0.467  $\mu\text{g/g}$ 의 결과를 나타냈다. 이 對照群의 肝臟과 腎臟의 카드뮴 수준은 국내에서 발표된 다른 논문의 對照群 肝臟의 카드뮴 함유량 0.09~0.22  $\mu\text{g/g}$  보다 16주 이후에는 약간 높았으며, 신장의 다른 논문의 결과인 0.25~0.46  $\mu\text{g/g}$ 의 범위<sup>20)</sup>내에 포함되었다.

마우스와 랫드의 카드뮴 腸管吸收率は 2~10% 정도인데적으면 카드뮴의 吸收가 증가한다고 보고 되어 있다.<sup>2)</sup> 그러나, 본 실험에서 사용한 飼料의 成分은 국제규격에 적합한 금속함량을 보였으므로, 이들 성분에 의한 吸收率의 영향은 없었을 것으로 사료된다.

카드뮴은 投與후 초기에는 血漿의 카드뮴농도가 높으나, 이후에 血球로 이동하여 혈장쪽은 낮아지고 혈구의 농도가 증가한다고 보고 되었다.<sup>17)</sup> Friberg 등<sup>17)</sup>은  $\text{CdCl}_2$  0.5 mg/kg을 14주 동안 피하주사했을 때 혈장의 카드뮴수준이 10, 14주에 증가하였으며, 이 시기가 肝臟, 腎臟의 카드뮴함량이 낮아지며 蛋白尿가 나타나는 시기와 일치하였고, 혈장내의 농도 증가는 肝臟으로부터 metallothionein(MT) 結合된 카드뮴이 유리되었기 때문이라고 보고하였다.

吸收된 카드뮴은 혈류를 타고 肝臟으로 이동하고, 상대적으로 적은 양이 腎臟으로 간다. 시간경과와 함께 肝臟으로 吸收된 카드뮴은 腎臟으로의 再分配가 일어난다. 카드뮴 동위원소를 이용한 실험에서 단기 投與時 초기농도는 肝臟이 높았으나 1개월째 두 장기의 농도가 같아졌으며, 이후부터는 腎臟의 농도가 肝臟의 농도보다 높아지기 시작하였고, 辜丸에서는 1회 經口投與에 의해 吸收되는 양은 매우 적었다고 보고되었다.<sup>21-24)</sup> 따라서, 본 실험에서 腎臟의 카드뮴 농도가 肝臟의 농도보다 높아지는 시기가 1개월보다 遲延된 8주 이후인 것은, 反復投與에 의해 肝臟의 농도가 높은 농도로 계속 유지되었기 때문인 것으로 생각된다.

Nordberg 등<sup>3,17)</sup>은  $\text{CdNO}_2$ 을 랫드에 0.75 mg Cd/kg(주당 3일 5~6개월)을 腹腔注射하여 3개월 후에 肝臟에 카드뮴 함유량이 최고 350 mg/kg이었으며, 腎臟은 4개월 후에 250 mg/kg이 되었다고 보고하고 있다. 토끼에  $\text{CdCl}_2$  0.25 mg/kg을 주당 5일 동안 11~29주간 皮下注射 하였을 때, 17주 후 肝臟과 腎皮質의 카드뮴 농도는 400~450 mg/kg이었으며, 17주 이후의 暴露에서는 더 이상 증가하지 않았으며 오히려 감소하였다고 보고된 바 있으나,<sup>2)</sup>

Nomiyama 등<sup>17,24)</sup>은 원숭이의 경우 간장의 카드뮴 臨界濃度는 210  $\mu\text{g/g}$ 이라고 보고하였다. 또한, Condron 등<sup>25)</sup>은 100 ppm  $\text{CdCl}_2$ 을 飲用水로 39주간 投與하였을 때 腎臟의 축적량이 102  $\mu\text{g/g}$  이었다고 보고하였다.<sup>25)</sup> 日本人에 대한 카드뮴의 生物學的 半減期는 肝臟 7년, 腎臟 17년이었으며, 生物學的 半減期는 投與量이 많아지면 더 짧아진다고 보고되고 있다. 사람에게 있어 정상적인 생활에서의 暴露는 腎臟에 최고농도가 40~50세, 肝臟 30세에 나타나며, 50세의 腎皮質 농도는 肝臟의 10~30배 가량 높은 것으로 보고되었다.<sup>2,22)</sup>

## 2. 血清中 毒性指標物質의 變化

본 실험에서는  $\text{CdCl}_2$ 로서 20 mg/kg을 16주간 經口投與하였을 때 血清중의 ALT, AST活性度는 投與 1주 후부터 유의한 증가를 보여 16주에는 ALT 198.3~187.5 U/l, AST 307.3~296.3 U/l의 수준까지 증가하였다. Glucose는 8주 후부터 유의한 감소를 보였으며, 16주에는 70.2~75.3 mg/dl의 수준을 보였다. Nordberg 등<sup>2,3)</sup>은  $\text{CdCl}_2$  0.25 mg/kg을 토끼에 주 5회 피하주사하였을 때 17주에 血清 AST活性度가 상승하였으며, 이때 肝臟의 카드뮴 농도가 450  $\mu\text{g/g}$ 이었다고 보고하여, 본 실험에서 혈청 AST활성도의 증가가 나타난 시기의 肝臟 카드뮴 농도 246.3  $\mu\text{g/g}$ 과 차이를 보였다. 木村<sup>2,22)</sup>은 2 mg/kg의 카드뮴을 주 6회 2주간 피하주사하였을 때 血清 AST活性度가 上昇하였다고 보고하였다. 본 실험에서는  $\text{CdCl}_2$ 로서 20 mg/kg을 16주간 經口 投與하였을 때 血清중의 BUN은 投與 4주부터, creatinine은 8주부터 유의한 변화가 나타났다. Nomiyama 등<sup>17,26,27)</sup>도 토끼에 1.5 mg/kg의 카드뮴을 45일간 연속 피하주사하였을 때 9일에 뇨중 아미노산과 함께 AST 排泄量이 증가하였고, 300  $\mu\text{g/g}$  카드뮴을 54주간 投與했을 때 16주에 뇨중 아미노산, ALP, AST, ALT 排泄量이 증가하였다고 보고하였다. 단백뇨가 나타나는 랫드의 腎皮質의 카드뮴 臨界濃度는 220~260  $\mu\text{g/g}$ , 병리학적 변화가 나타나는 腎皮質의 카드뮴 임계농도는 56~400  $\mu\text{g/g}$ 이었다고 보고하였다.

## 3. HSP<sub>70</sub>의 發顯

카드뮴投與群 肝臟에서는 投與 後 4시간, 腎臟에서 投與 後 2시간, 辜丸에서 投與 後 2시간에 HSP<sub>70</sub>의 發顯이 증가하였다. Kato 등<sup>28)</sup>은  $\text{CdCl}_2$ 와  $\text{NaAsO}_2$ 에 의해서 HSP<sub>70</sub>의 發顯을 확인하였으며 Ohtsuko 등<sup>29)</sup>은



高温處理後 6~9시간 내에 HSP<sub>70</sub>의 發顯增加를 보고하였고, Heikkila등<sup>15)</sup>은 熱耐性的의 획득과 관련하여 胚仔細胞에서 HSP<sub>70</sub>의 發顯을 확인하였다. Li등<sup>30)</sup>은 耐熱性 獲得과 HSP<sub>70</sub>이 관계가 있음을 확인하면서, HSP<sub>70</sub>의 유도는 暴露後 4시간부터 72시간까지 지속되었다고 보고하였고, Bauman등<sup>31)</sup>은 카드뮴 2.0~8.0 μM을 랫드 肝細胞에 적용한 후 4시간에 熱衝擊에 의해 나타나는 형태의 HSP70의 發顯되는 것을 확인하였다. Goering등<sup>16)</sup>은 랫드腎臟에서 CdCl<sub>2</sub> 2 mg/kg을 靜脈投與하여 4시간 후에, 70, 90, 110 KDa의 *de novo* 蛋白質 合成增加를 확인하였는데 합성증가된 蛋白質을 HSP<sub>70</sub>, HSP<sub>90</sub>, HSP<sub>110</sub>으로 추측하면서 細胞毒性에 대한 指標로서 제안하였으며, 이때의 腎臟 카드뮴농도는 4~8 μg/g으로 보고하였다.

따라서, 본 실험의 결과는 Ohtsuka등, Li등, Goering등이 HSP<sub>70</sub>의 發顯을 보고한 시간과 일치하였으며, 이때의 肝臟 카드뮴 농도 0.685 μg/g, 腎臟 카드뮴 농도 0.003~0.208 μg/g으로 Goering등<sup>16)</sup>이 보고한 肝臟 9.92 μg/g, 腎臟 0.95 μg/g의 결과보다 낮게 나타났다. 이같은 차이는, 카드뮴 投與方法이 본 실험에서는 經口投與를 Goering등은 정맥주사를 하였기 때문에, 투여방법에 따른 카드뮴의 吸收특성에 기인하는 것으로 생각된다.

Lindquist등<sup>32)</sup>은 HSP<sub>70</sub>이 細胞 內에서 酸化反應 등에 의해 變性되거나 非正常的인 蛋白質을 제거시키는 역할을 수행한다고 하여 카드뮴의 細胞毒性機轉은 細胞 內 變性된 蛋白質生成과 관련한 酸化作用의 가능성을 제시하였다. Hiranuma등<sup>32)</sup>은 HSP<sub>70</sub>이 카드뮴 投與 6시간 경과 후 감소하지만, metallothionein은 6시간 경과 이후에도 계속 유지되는 것으로 보고하였다.

본 실험에서 수행한 免疫組織化學 檢査에 의하면 HSP<sub>70</sub>의 腎臟에서의 發顯部位는 腎臟 絲球體와 細尿管 上皮細胞로서, 吸收된 카드뮴이 濾過·再吸收되면서 손상을 입게되는 부위와 일치하였다. 따라서, HSP의 發顯은 카드뮴에 의해 직접 접촉되는 細胞와의 반응에 의해 만들어지는 물질과 관계가 있는 것으로 생각된다.

본 실험에서는, HSP<sub>70</sub>을 이용하여 카드뮴폭로에 대한 反應의 迅速성을 證明하여 카드뮴폭로에 대한 生物學的 指標로서의 使用可能性을 提示하였다. 그러나, 생물학적 지표로서 일반화되기까지는 敏感度 (sensitivity)와 特異度 (specificity)의 증명은 물론, 利用의 便利성을 확보하여야 할 것이다. 또한, 카드

뮴의 毒性發現 機轉을 설명하기 위한 한가지 방법으로서 HSP<sub>70</sub>에 대한 細胞內 作用機轉이 규명되면 이에따른 카드뮴의 세포내 作用機轉도 밝혀지게 될 것이다.

## V. 結 論

본 연구는 카드뮴폭로에 대한 세포수준의 반응으로서 HSP(Heat Shock Protein, 열충격단백질 혹은 스트레스단백질)의 발현시기와 발현정도를 관찰하고, 카드뮴중독이 랫드의 표적장기에 미치는 영향을 파악하고자 실시하였다. 실험동물로는 Wistar계 SPF 수컷 랫드 231마리를 사용하였으며, 대조군, 카드뮴투여군(Cd, CdCl<sub>2</sub> 20 mg/kg)으로 구분하였다. 시험물질은 시간 간격에 따라 1, 2, 4, 8, 16, 24시간, 2, 4, 7일, 2, 4, 8, 16주에 투여하였으며, 관찰한 결과는 다음과 같다.

1. 카드뮴투여 후 4시간에 혈중 카드뮴함량이 1.256 μg/g으로 대조군의 0.004 μg/g에 비하여 높아졌으며, 투여 4주까지는 간장의 카드뮴함량이 46.40 μg/g으로 신장의 45.55 μg/g보다 높았으나, 8주 후부터는 간장의 카드뮴함량 86.37 μg/g 보다 신장의 카드뮴함량이 103.9 μg/g으로 더 높았다. 따라서, 카드뮴은 투여 후 4시간에 혈액중에 높게 나타나고, 점차 간장으로 이동하며 다시 간장에서 신장으로 이동함으로써, 8주 이후에는 간장보다 신장의 카드뮴 축적량이 많아지는 것으로 나타났다.

2. 카드뮴투여에 의한 혈청중의 효소 변화에서 ALT(Alanine Aminotransferase), AST (Aspartate Aminotransferase) 활성도는 투여 후 1주일부터 65.2 U/l, 144.7 U/l로 증가했지만 간장 독성을 일으키는 정도는 아니었으며, glucose는 투여 8주에 대조군 113.8 mg/dl에 비하여 77.5 mg/dl의 낮은 결과를 보여 대조군과 투여군간의 통계학적 유의성(p < 0.05)을 보였다. BUN(blood urea nitrogen)은 투여 4주에 대조군의 19.3 mg/dl에 비하여 Cd군에서 24.8 mg/dl로 유의한 증가를 보였다.(p < 0.05) Creatinine은 투여 8주에 대조군의 0.77 mg/dl에 비하여 1.13 mg/dl로 높은 증가를 보였으며(p < 0.05), 16주에는 대조군 0.78 mg/dl로 Cd군의 1.27 mg/dl에 비하여 유의하게 낮은 결과를 보였다.(p < 0.05)

3. HSP<sub>70</sub>은 카드뮴투여 후 2시간부터 발현이 증가되어, 48시간까지 지속되며, 이후에 원상태로 회복되는 것으로 나타났다. 신장에서의 HSP<sub>70</sub> 발현은 사

구체와 세뇨관 상피세포에서 주로 발현되는 것으로 나타났다.

이상의 결과로부터, 랫드에 카드뮴을 投與하였을 때 HSP<sub>70</sub> 發顯은 投與 後 2~4시간 내에 나타나는 迅速한 反應임을 알 수 있었고, 精確학적인 효소변화는 1주 혹은 4주 투여 후에 변화가 나타나는 변화였으며, 병리조직학적검사는 투여 8주 이후에 변화가 관찰되는 것으로 나타나서, HSP<sub>70</sub>의 변화가 가장 신속하게 카드뮴의 폭로를 나타내는 지표임을 알 수 있었다.

### 參考文獻

- 1) 임국환, 이용욱 : 카드뮴 독성이 임신 백서의 태자에 미치는 영향과 우유의 방어효과에 관한 실험적 연구, 대한보건협회지, 15(1), 3-21, 1989.
- 2) 土屋健三郎 : 金屬中毒學, 285-307, 醫齒藥出版, 1980.
- 3) Nordberg, G. F. : Cadmium carcinogenesis and its relationship to other health effects in humans. Scandinavian Journal of Work Environmental Health, 19, 104-107, 1993.
- 4) Kawada T., H. Koyama, and S. Suzuki : Cadmium, NAG activity, and  $\beta_2$ -microglobulin in the urine of cadmium pigment workers. British Journal of Industrial Medicine, 46, 52-55, 1989.
- 5) 1994-'95 Threshold limit value for chemical substances & physical agents & biological exposure indices. ACGIH, 1994.
- 6) Waalkes, M. P., A. Peranton, M. R. Bhave and S. Rehm : Strain dependence in mice of resistance and susceptibility to the testicular effects of cadmium : assessment of the role of testicular cadmium-binding proteins. Toxicology and Applied Pharmacology, 93, 47-61, 1988.
- 7) Jin, T. and G. F. Nordberg : Cadmium toxicity in kidney cells. Resistance induced by short term pretreatment in vitro and in vivo. Acta Pharmacology et Toxicology, 58, 137-143, 1986.
- 8) Lindquist L., and E.A. Craig : The heat shock proteins. Annual Review of Genetics, 22, 631-677, 1988.
- 9) Pipkin, J. L., J. F. Anson, W. G. Hinson, E. R. Burns, D. A. Casciano and D. M. Sheehan : Cell cycle-specific effects of sodium arsenite and hyperthermic exposure on incorporation of radioactive leucine and phosphate by stress proteins from mouse lymphoma cell nuclei. Biochemistry et Biophysics Acta, 927, 334-344, 1987.
- 10) Heikkila, J. J., L. W. Browder, L. Gedamu, R. W. Nickells and G. A. Schultz : Heat-shock gene expression in animal embryonic systems. Canadian Journal of Genetic Cytology, 28, 1093-1105, 1986.
- 11) Mirkes, P. E., and B. Doggett : Accumulation of heat shock protein 72 (hsp 72) in post-implantation rat embryos after exposure to various periods of hyperthermia (40°-43°C) in vitro : Evidence that heat shock protein 72 is a biomarker of heat-induced embryotoxicity. Teratology, 46, 301-309, 1992.
- 12) German, J. E. Louie and D. Banerjee : The heat-shock response in vivo : Experimental induction during mammalian organogenesis. Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis, 6, 555-562, 1986.
- 13) Walsh, D., K. Li, F. Zeng, L. Zhe and M. Edwards : Heat shock genes and cell cycle regulation in early mammalian development. Heat Shock Proteins in the Nervous System, 123-144, 1994.
- 14) Walton, P. A., M. Wendland, S. Subramani, R. A. Rachubinski and W. J. Welch : Involvement of 70-kD heat-shock proteins in peroxisomal import. Journal of Cell Biology, 125, 1037-1046, 1994.
- 15) Donati, Y. R. A., D. O. Slosman and B. S. Polla : Oxidative injury and the heat shock response. Biochemical Pharmacology, 40(12), 2571-2577, 1990.
- 16) Goering, P. L., C. L. Kish and B. R. Fisher : Stress protein synthesis induced by cadmium-cysteine in rat kidney. Toxicology, 85, 25-39, 1993.
- 17) Friberg L., C. G. Elinder, T.Kjellstrom and G.F. Nordberg : Cadmium and health a toxicological and epidemiological appraisal. volume 1, CRC press, 1-178, 1985.
- 18) Clayton G. D., F. E. Clayton : Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 4th edition, volume II, 35-49, 1880-2057, 1991.
- 19) O'Farrell, P. H. : High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. Journal of Biological Chemistry, 250(10), 4007-4021, 1975.
- 20) 이재형, 김정현, 김남중, 김문현, 기노석 : 카드뮴 및 아연 투여에 의한 흰쥐의 장기내 카드뮴 축적 및 Metallothionein 생성변화, 한국환경위생학회지 20(2), 64-72, 1994.
- 21) Ninomiya, R., N. Koizumi and T. Tsukamoto : Change of metal distribution in organs of cadmium-administered and copper-deficient rat. Japanese Journal of Hygiene, 48, 920-931, 1993.
- 22) Hinkle, P. M., and M. E. Osborne : Cadmium toxicity in rat pheochromocytoma cells : Studies on the mechanism of uptake. Toxicology and Applied Pharmacology, 124, 91-98, 1994.

- 23) Theocharis, S. E., A. P. Margeli, N. Giannakou, D. S. Drakopoulos and M. G. Mykoniatis : Cadmium-induced hepatotoxicity in three different rat strains. *Toxicology Letters*, 70, 39-48, 1994.
- 24) Nishijo, M., H. Nakagawa, Y. Morikawa, M. Tabata, M. Senma, Y. Kitagawa, S. Kawano, M. Ishizaki, N. Sugita, M. Nishi, T. Kido, and K. Nogawa : Prognostic factors of renal dysfunction induced by environmental cadmium pollution. *Environmental Research*, 64, 112-121, 1994.
- 25) Condon, R. J., C. J. Schroen and A. T. Marshall : Morphometric analysis of renal proximal tubules in cadmium-treated rats. *Journal of Sub-microscopic Cytology and Pathology*, 26(1), 51-58, 1994.
- 26) Waalkes, M. P., and L. A. Poirier : Interactions of cadmium with interstitial tissue of the rat testes. *Biochemical Pharmacology*, 34(14), 2513-2518, 1985.
- 27) Guthrie, C. J. G., D. R. Chettle, D. M. Franklin, M. C. Scott, H. J. Mason, A. J. Wright, D. R. Gompertz, A. G. Dvaison, P. M. Fayers, and A. J. Newman Taylor. The use of multiple parameters to characterize cadmium-induced renal dysfunction resulting from occupational exposure. *Environmental Research*, 65, 22-41, 1994.
- 28) Kato, K., K. Hasegawa, S. Goto, and Y. Inaguma : Dissociation as a result of phosphorylation of an aggregated form of the small stress protein, hsp 27. *Journal of Biological Chemistry*, 269(15), 11274-11278, 1994.
- 29) Ohtsuka, K., H. Nakamura and C. Sato : Intracellular distribution of 73,000 and 72,000 dalton heat shock proteins in HeLa cells. *International Journal of Hyperthermia*, 2(3), 267-275, 1986.
- 30) LI, G. C., and J. Y. Mak : Re-induction of hsp70 synthesis : an assay for thermotolerance. *International Journal of Hyperthermia*, 5(3), 389-403, 1989.
- 31) Bauman, J. W., J. Liu, and C. D. Klaassen : Production of metallothionein and heat-shock proteins in response to metals. *Fundamental Applied Toxicology*, 21, 15-22, 1993.
- 32) Hiranuma, K., K. Hirata, T. Abe, T. Hirano, K. Matsuno, H. Hirano, K. Suzuki and K. Higashi : Induction of mitochondrial chaperonin, hsp60, by cadmium in human hepatoma cells. *Biochemistry and Biophysics Research Communications* 194(1), 531-536, 1993.