

Paraquat 독성 경감제 검색 및 그 억제 기전에 관한 연구

이정훈 · 구성자* · 정세영

경희대학교 약학과, *경희대학교 식품영양학과

Studies on Screening of Paraquat Toxicity Reducing Agent and its Inhibition Mechanism

Jeong-Hun Lee, Sung-Ja Koo* and Se-Young Choung

Department of Pharmacy, Kyunghee University

*Department of Food and Nutrition, Kyunghee University

Abstract

In this study, we intended to evaluate the modulatory effects of natural products, β -carotene, aloesin and semi-essential amino acid, taurine on the toxicity of paraquat. In the taurine treated groups, serum glutamic oxaloacetic transaminase (s-GOT), serum glutamic pyruvic transaminase (s-GPT), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, malondialdehyde (MDA), alkaline phosphatase (ALP) activity in serum and MDA, ALP activity, collagen in lung tissue were decreased to the normal values. In the aloesin treated groups, s-GPT, BUN, creatinine, MDA level in serum were decreased to the normal values significantly. In the β -carotene treated groups, only s-GPT activity was reduced to the normal values. In the lung tissue of taurine treated groups, MDA value, G-6-phosphatase activity and collagen synthesis were recovered to the normal values and ALP activity was increased about 40%. From these results, we concluded that taurine is an effective agent to inhibit the pulmonary and internal organs toxicities induced by paraquat and the inhibition effects of taurine are due to remove free radicals directly.

Key words : paraquat toxicity, β -carotene, aloesin, taurine, BUN, creatinine, MDA, s-GPT

서 론

Paraquat (1,1-dimethyl 4,4'-dipyridium dichloride; PQ)는 1950년대 중반부터 제초작용이 발견된 이후 우리나라를 비롯한 전세계에서 가장 많이 사용되고 있는 속효성 제초제로써 식물, 세균 및 동물에 대한 독성작용 기전이 광범위하게 연구되어지고 있다⁽¹⁾. PQ를 인체에 노출시 국소자극작용에 의한 위장관장애, 간장해 및 신장해 등이 나타나고, 마지막에는 폐장애가 나타나 lung fibrosis라는 폐독성 및 신부전에 의해 사망에 이르게 된다⁽²⁾. 사람에게 있어서 PQ의 치사량은 4 mg/kg이며, LD₅₀은 120 mg/kg이다⁽³⁾. Paraquat유도 폐독성은 destructive phase와 proliferative phase의 이상성을 나타낸다. Destructive phase의 초기에 alveolar 기초막이 이차봉괴가 용이해지도록 완전노출되고, destruc-

tive phase의 가장 특징적인 폐부종이 나타나며, 이것이 진행하여 proliferative phase가 되고, 폐는 fibroblast로 급속하게 분화되어 profibroblastic cell과 함께 침윤되어 때로는 fibrosis로 진전되기도 한다. 동물에 paraquat의 단일 고용량을 투여하면 처리 4~6시간 후 제일 먼저 alveolar epithelial cell type I에서 초미세구조의 병변이 관찰되고, 활면 소포체 및 미토콘드리아의 팽윤, 미토콘드리아수의 증가 및 세포질내에 진한 vesicle이 출현하며, LD₅₀이상의 고용량을 투여하면 type I 세포상에 폭로된 기초막에 necrosis가 나타난다⁽⁴⁾.

PQ의 폐독성 기전은 생체내에서 NADPH 의존성 cytochrome P₄₅₀ reductase 및 xanthine oxidase와 관련된 redox cycle에 의해 생성된 paraquat radical이 분자상의 산소와 작용하여 활성산소인 superoxide anion과 hydroxy radical이 생성되고(Fig. 1), 이로 인해 지질과산화에 의한 세포막손상, hyaluronic acid의 depolymerization, 단백질의 불활성화, DNA의 손상 및 NADPH의 수소탈리에 의한 지방산 생합성의 저해 등이 일어

Corresponding author: Se-Young Choung, Department of Pharmacy, Kyunghee University, San 1 Hoeki-dong, Dong-daemun-gu, Seoul 130-701, Korea

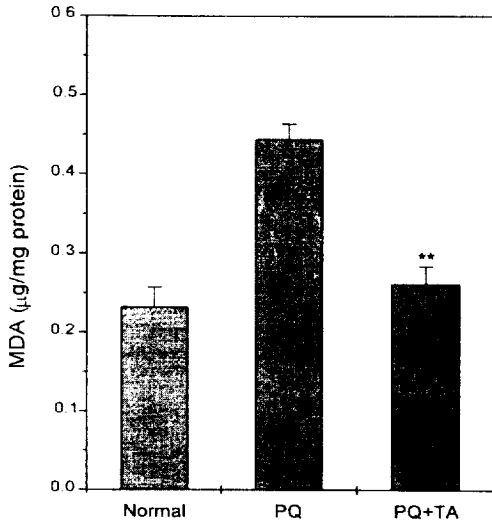


Fig. 1. Effect of taurine on MDA level in lungs of PQ treated rats. Each value is mean \pm S.E. of data from 5 rats. Significant difference between PQ and taurine treated group (** $P < 0.01$).

난다⁽⁵⁾. 또한, quinone계 항암제의 작용기전에서와 같이 세포내 NADPH의 감소로 인해 환원형 glutathione의 감소가 일어나 지질과산화를 촉진하여 장해를 일으킨다. 그리고, paraquat는 폐에 존재하는 alveolar macrophage를 자극하여 neutrophil chemotactic factor를 내게하여 염증을 유도하며, 폐조직내 fibroblast를 자극하여 fibronectin, collagen 생합성을 촉진하고, growth factor를 분비하여 폐 fibrosis를 일키게 된다⁽⁶⁾. PQ는 현재 간접농축이나 직접적인 취급상의 부주의와 자살 목적으로 복용하여 사망에 이르게 되나, 효과적인 치료법과 치료제는 없는 실정이다. 일반적으로 빈용되는 치료법과 치료제로서는 위장관 내의 paraquat를 흡착제거하기 위해 흡착제 Fuller's earth, bentonite 및 활성탄 등의 투여와 함께 PQ의 배설을 촉진시킬 목적으로는 hemodialysis 및 hemoperfusion 등과 강제이뇨를 시행한다. 특히 PQ의 폐독성을 경감시킬 목적으로 PQ가 폐로 유입되는 과정에서 putrescine과 같은 amine 화합물의 receptor를 이용한다는 점에 착안하여 PQ 경쟁적 inhibitor인 spermine, spermidine 등의 polyamine 화합물⁽⁷⁾을 사용하고, oxyden radical 생성 주대사계를 차단시킬 목적으로 NADPH cyt P₄₅₀ reductase inhibitor, xanthine oxidase inhibitor를 연구하고 있으며, 항염증제인 glucocorticoid 등의 steroid제제 및 면역억제제, B-blocker, vitamine C, tocopherol, superoxide dismutase (SOD) 등이 연구되어지고 있다⁽⁷⁾.

Taurine은 분자량이 125.14로 NH₂CH₂CH₂SO₃의 분

자구조식을 가지는 SH기 함유 아미노산의 마지막 대사체로써 포유류의 성장에 중요한 물질로 담즙산과 결합되어있는 형태로 처음 발견된 이래 우유에 많이 존재하고 수소의 폐 추출물에도 많이 존재하는 것으로 알려져있다. 백혈구와 같은 면역세포에는 일반세포보다 1000배 이상인 22~50 mM 단위로 존재하여 백혈구가 식균작용시 생성시키는 radical을 제거하는 항산화물질이며⁽⁸⁾, 심근에도 고용량 존재하여 항부정맥 및 혈압강하 효과를 나타내고⁽⁹⁾, 혈소판 응집억제효과와 신장에서 고용량 존재하여 세포막안정화 작용과 calcium modulation 작용에 의한 조직보호 효과를 나타낸다⁽¹⁰⁾. 실제 임상에서 고지혈증과 대사이상 질환에 사용되고 있다. 특히 taurine은 아미노산이므로 각 장기 조직에서 active transport되어 고농도로 조직에 분포되며, 지질과산화에 의해 생성되는 malondialdehyde를 간, 신장, 폐조직에서 현저히 감소시키는 것으로 알려져있어 PQ에 의한 각 장기에서의 지질과산화를 현저히 억제시킬 것으로 예상되어진다⁽¹¹⁾.

따라서, 본 연구에서는 taurine과 천연항산화 물질로 알려진 β -carotene, aloesin을 시료로 하여 paraquat에 독성 감각성이 높은 female rat에 대해 혈액생화학적 분석과 장기의 조직 생화학적 분석을 통하여 paraquat 독성경감정도를 검색해 봄으로써 이들의 paraquat 독성경감제로서의 개발가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

체중 200 g의 암컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 삼육 실험동물센터에서 분양받아 사용하였으며 Taurine은 Dong-A Pharm. Co.에서 구입하여 사용하였고 기타 모든 시약은 Sigma Chem. Co. 제품을 구입하여 사용하였다.

실험동물 처치

삼육실험동물센터에서 분양받은 200 g 전후의 SD (Sprague-Dawley)계 웅성 rat를 사용하였다. 대조군은 saline을 24시간 간격으로 4일 반복투여하였다. PQ 단독 투여군은 PQ (50 mg/kg)를 복강내(intraperitoneal injection)에 1회 투여 하였다.

독성경감제로써 taurine을 처리한 군은 taurine을 PQ의 5배(121.59 mg/kg), 50배(1215.9 mg/kg) mole 비로 PQ 투여 72, 48, 24, 1시간 전에 4회 반복 투여하고 최종투여 1시간후에 PQ (50 mg/kg)을 복강내에 1회 투여하였다. β -carotene, aloesin을 처리한 군은 β -carotene

을 PQ의 2배(208.9 mg/kg) mole 비로, aloesin도 PQ의 2배(151.75 mg/kg) mole 비로 PQ 투여 72, 48, 24, 1시간 전에 4회 반복 투여하고 최종투여 1시간후에 PQ (50 mg/kg)을 복강내에 1회 투여하였다. PQ 투여 24시간 후에 sacrifice 하였다.

혈청, 혈장 및 조직분리

SD rat을 ether로 가법계 마취시킨 후 회복하여 심장 채혈하고 실온에서 30분 방치한후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액인 serum을 분리하였다. 혈장은 heparin 처리한 주사기로 심장채혈하여 즉시 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 조직은 SD rat의 portal vein으로 0.9% NaCl을 perfusion하여 혈액을 제거한 후 분리하였다.

간독성 지표 (s-GOT, s-GPT) 측정

GOT 및 GPT 기질용액 1 mL을 취해 37°C에서 3분간 incubation한 후 serum 0.2 mL을 취해 혼합하고 37°C에서 GOT는 1시간, GPT는 30분간 incubation하였다. 여기에 2,4-dinitrophenylhydrazine (2,4-DNPH) 1 mL을 가하고 상온에서 20분간 방치후 0.4 N-NaOH 10 mL을 가하고 20분간 방치후 0.4 N-NaOH 10 mL을 가하고 진탕후 505 nm에서 흡광도를 측정 하였다.

Blood urea nitrogen (BUN)량 측정

Urease 0.1 mL을 완충액 20 mL에 섞어 만든 효소 완충액 2개에 각각 혈청과 기준액(60 mg/100 mL Urea-N) 0.02 mL 을 넣고 37°C에서 15분간 incubation 한 후 발색액을 각각 2 mL 씩 넣고 37°C에서 15분간 Urea-N (60 mg/100 mL) 0.02 mL을 가하고 상온에서 20분간 방치후 0.4 N-NaOH 10 mL을 가하고 진탕후 505 nm에서 흡광도를 측정 하였다.

Creatinine량 측정

혈청 0.1 mL에 피크린산시약 3 mL을 넣고 37°C 수조에서 20분간 방치후 맹검을 대조로 515 nm에서 검체 및 표준의 흡광도를 측정하였다(A1). 각각의 검체에 에시드시약 2방울 씩을 떨어뜨리고 37°C 수조에서 5분간 방치후 맹검을 대조로하여 515 nm에서 검체의 흡광도를 측정하였다(A2). A1에서 A2를 뺀 흡광도 수치로부터 검량선에서 creatine량을 산출하였다.

계산법 : 검체의 흡광도 = A1 - A2

혈청 alkaline phosphate 활성 측정

0.05 mL의 혈청에 0.1 M Tris-buffer (pH 7.4) 2 mL 및 p-nitrophenylphosphate (pH 10.3) 0.2 mL을 가하고 37°C에서 15분간 정확히 incubation한후 1 M NaCO₃ 0.6 mL을 가한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈장 malondialdehyde (MDA)량 측정

혈장 0.5 mL에 0.8% thiobarbituric acid 0.8 mL를 가하고 boiling water bath에서 30분간 방치한 후 ice bath에서 냉각하여 반응을 정지하였다. 여기에 n-butanol 2 mL을 가하고 원심분리하여 상등액을 532 nm에서 흡광도 측정하였다. 표준물질로 10 µg/mL 의 tetraethoxypropane (TEP)을 사용하였다.

조직 malondialdehyde (MDA)량 측정

10% 폐조직 균질액 0.5 mL에 10% SDS (sodium dodecylsulfate) 0.4 mL을 가하고 37°C에서 30분간 수조에 방치시킨 후 0.1 N-HCl 2 mL, 0.67% thiobarbituric acid (TBA) 1 mL을 가하고 혼합하여 boiling water bath에서 30분간 반응 후 ice bath에서 냉각하여 반응을 정지시켰다. 여기에 n-butanol 2 mL을 가하고 원심분리하여 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 10 µg/mL의 TEP을 사용하였다.

조직 alkaline phosphatase 활성 측정

Rat 폐조직을 균질화한 후 ice bath상에서 10~20초간 sonication하고 0.1 M Tris-buffer (pH 7.4)에 넣어 10% 균질화 한후 기질로 p-NPP (pH 10.3) 0.2 mL를 가하고 37°C에서 1분간 수조에 방치하였다. 20%의 TCA 0.4 mL로 반응을 중단하고 ice bath에서 5분간 방치후 2000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액 0.45 mL을 취하여 1 M Na₂CO₃ 0.6 mL을 가하였다. 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Glucose-6-Phosphatase 활성 측정

Traiger & Plaa's modification 법⁽¹²⁾에 준하였다. Tris-maleate buffer (pH 6.2)로 세척한 폐조직의 일부를 취하여 20 mg/mL의 균질액을 만들고 여기에 glucose-6-phosphate를 가한 후 37°C에서 20분간 수조에 방치하였다. trichloroacetic acid (TCA)를 가하여 반응을 정지시킨 후에 상등액 2.0 mL을 취하여 Fiske-Subbarow 법⁽¹³⁾에 따라 무기인을 정량하였다.

Collagen 중의 hydroxyproline의 정량

조직중 hydroxyproline의 양은 Jamall 등⁽²⁾ 방법에 준하였다.

검체에 0.01 M CuSO₄, 2 N NaOH, 6% H₂O₂를 넣고 5분간 진탕후, 80°C의 수욕에 5분간 진탕하였다. 위의 용액을 빙수중에서 냉각하여 혼합하고 1.5 N H₂SO₄, p-diaminobenzaldehyde (p-DAB)를 가하여 3분간 진탕하여 80°C의 수욕에 30분간 방치하였다. 수돗물로 실온이 될 때까지 냉각하여, 560 nm 에서 비색 측정하였으며 표준물질로 15 μM의 hydroxyproline을 사용하였다.

결 과

Taurine, aloesin, β-carotene에 의한 paraquat 독성 억제 효과

Paraquat 유도 독성에 미치는 taurine, aloesin, β-carotene의 혈액 생화학적 억제효과는 Table 1, Table 2에서 보는 바와 같다. 간조직의 손상시에 아미노산 전이효소인 s-GOP와 s-GPT는 혈액으로 유리되고 단백질이므로 신장으로 배설되지 않아 혈중농도가 증가한다. 그러므로 혈액중에서 s-GOT와 s-GPT 활성변화는 간독성을 파악하는 좋은 지표가 된다. Alanine aminotransferase (s-GPT) 활성변화는 PQ투여군이 정상군에 비하여 2.5 배 정도 증가하였고, taurine 투여군, aloesin 투여군, β-carotene 투여군에서 모두 정상치로 억제되었다. 이것은 taurine, aloesin, β-carotene이 paraquat의 간독성을 방어해줌을 의미한다. 신장의 근위세뇨관의 손상시에 신장으로 배설되는 아미노산의 최종대사산물인

urea는 뇨로 배설되지 못하여 혈중 농도가 증가되게 된다. 그러므로 혈중 urea의 농도증가는 신장손상의 좋은 지표가 된다. PQ 단독 투여군에서 urea의 수치가 정상군에 비해 2배 증가하였으며, taurine투여군은 정상수치로 회복되어 독성발현이 100% 억제되었다. 이것은 taurine이 paraquat의 신장 근위세뇨관 손상을 방어함을 의미한다. Aloesin도 BUN치가 paraquat 투여군에 비해 65% 회복되어 유의성있게 신장을 보호해 줌을 알 수 있다. β-carotene은 전혀 신장보호 효과를 나타내지 않았다. Creatinine은 근육조직에서 ATP와 같이 인산에너지 공급원으로 작용하다 혈중으로 유리되어 뇨중으로 100% 배설되는데 신장의 근위세뇨관이 손상될 경우 혈중 creatinine치가 증가한다. 그러므로 신장독성을 나타내는 좋은 지표라 할수 있다. 신장독성 지표인 Creatinine치는 PQ투여군이 정상군에 비하여 2.5배 정도 증가하였고, taurine 투여군에서 모두 정상으로 회복되었다. 이것은 taurine이 paraquat의 신장 근위세뇨관 손상을 방어함을 의미한다. Aloesin 투여군에서도 80%정도 신장독성 발현이 억제되었다. 그러나, β-carotene은 전혀 신장 보호 효과가 나타나지 않았다. Alkaline phosphatase (ALP)는 알칼리성에서 인산결합을 제거하는 enzyme이다. 간, 신장을 비롯한 전신 조직에 골고루 분포하고 있다. 각조직이 손상되어 세포가 파괴되면 혈액중 ALP의 활성이 증가하게 된다. 전신독성지표인 혈청 ALP 활성은 PQ투여군이 대

Table 1. Effects of radical scavengers on biochemical parameters in serum of rats treated with paraquat

	ALP (KA unit)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	GPT (U/L)	MDA (ng/mL)
Normal	11.6±1.53	18.2±2.06	0.25±0.05	19.12±2.64	0.22±0.02
PQ alone	20.0±1.82	39.9±5.35	0.65±0.06	54.33±5.13	0.50±0.18
PQ+β-carotene (208.9 mg/kg)	17.6±5.65	39.4±8.14	0.51±0.18	23.66±1.52**	0.38±0.27
PQ+aloesin (151.75 mg/kg)	13.3±4.93	25.5±7.64*	0.33±0.19*	24.33±2.08**	0.30±0.03*
PQ+taurine (1215.9 mg/kg)	13.7±0.57**	20.3±3.11**	0.27±0.07**	14.25±1.64**	0.17±0.02**

Each group was three animals. Values are expressed as mean S.E.

Significant difference between PQ group and radical scavenger treated group (*P<0.05 **P<0.01).

Normal rats were administered with saline consecutive four days.

Table 2. Effects of taurine on biochemical parameters in serum of rats treated with paraquat

	ALP (KA unit)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	MDA (ng/mL)
Normal	13.2±2.97	16.2±5.11	0.26±0.04	30.44±6.38	60.71±3.16	0.24±0.07
PQ alone	19.0±2.78	42.3±7.71	0.86±0.32	68.82±12.44	141.09±19.62	0.97±0.32
PQ+taurine (121.59 mg/kg)	12.5±0.63**	22.5±5.02**	0.47±0.02**	23.37±3.12**	71.12±13.56**	0.34±0.07**
PQ+taurine (1215.9 mg/kg)	12.7±1.72**	19.3±2.35**	0.26±0.07**	11.12±2.33**	80.60±10.22**	0.26±0.05**

Each group was ten animals

Values are expressed as mean S.E.

**Significant difference between PQ group and TA treated group (P<0.01).

Normal group rats were administered with saline consecutive four days

조균에 비하여 0.5배 증가했으며 taurine 투여군에서 모두 정상으로 회복되었다. Aloesin 투여군도 정상치로 회복되었지만 편차가 컸다. β -Carotene 투여군은 전혀 효과가 없었다. 세포막이 radical에 의해 공격을 받게 되면 세포막은 lipid peroxidation에 의해 파괴되고 최종산물인 MDA가 생성된다. 이 MDA의 혈중농도의 증가는 곧 조직중 MDA 생성과 깊은 연관이 있다. Plasma중 MDA 생성량은 PQ투여군이 정상군에 비하여 2.5배 정도 증가하였으며 taurine 투여군에서 100% MDA 생성이 억제되었고, aloesin 투여군에서는 70%정도 MDA 생성이 억제되었다. 이로써 taurine은 paraquat의 전신 독성을 유의성 있게 방어해주는 것을 알 수 있다. Taurine은 투여후 5일이 지날 때 까지 45% 정도 뇨중으로 배설되고 나머지는 각 조직에 active transport 되어 항상성을 유지하는 범위에서 고농도로 생체내에 존재하게 된다. 따라서, Table 2에서는 taurine의 투여농도 변화에 따른 독성억제효과를 비교해 보았다. Taurine 1215.9 mg/kg 투여군은 taurine 121.59 mg/kg 투여군에 비해 creatinine수치가 35%가 더 회복되었으며, MDA 생성량은 14% 정도 더 억제되었다. GPT 수치도 23.37 (U/l)에서 11.12 U/L로 간 보호 효과가 증가하였다. Taurine (121.59 mg/kg), aloesin (151.75 mg/kg), β -carotene (208.9 mg/kg)을 비교해 보면 taurine과 aloesin이 전반적으로 같은 정도의 독성억제효과를 나타냈으며 β -carotene은 간독성 억제 효과를 제외하고는 효과가 나타나지 않았다. 이상의 혈액생화학적인 분석을 종합해 보면 paraquat의 독성경감효과는 taurine, aloesin, β -carotene 중 taurine이 가장 우수하였으며, taurine의 투여 농도를 증가시킴에 따라 paraquat의 독성억제효과도 증가하는 것으로 나타났다. 또한 aloesin도 효과가 있는 것으로 나타났다.

Taurine의 폐조직 생화학적 인자에 대한 개선효과

Paraquat의 주된 독성기전중의 하나가 radical 생성에 의한 조직 손상이므로 지질과산화의 최종 생성물인 MDA 생성량을 폐조직중에서 측정하여 보았다. In vivo에서 PQ 유도 MDA 생성에 대한 taurine의 영향은 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

Paraquat 투여군에서 약 2배 정도의 MDA 생성 증가가 나타났으나 PQ를 taurine과 동시에 투여함으로써 MDA생성이 정상치로 회복되었다.

PQ 투여군의 폐조직중 ALP activity는 PQ 투여군에서 현저한 감소를 보였으며 taurine 투여군에서 크게 40% 회복되는 경향을 나타내었다(Fig. 2).

조직중의 glucose-6-phosphatase(G-6-Pase) 활성변화

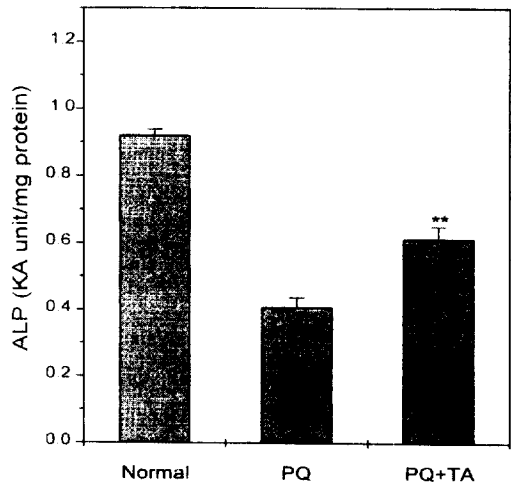


Fig. 2. Effect of taurine on pulmonary ALP activity in PQ treated rats. Each value is mean \pm S.E. of data from 5 rats. Significant difference between PQ and taurine treated group (** $P < 0.01$).

는 Fig. 3에서 보는 바와 같다.

G-6-Pase는 endoplasmic reticulum과 관련이 있고 이 효소의 활성 저하는 특이적으로 organella의 손상을 반영한다고 한다. 조직이 radical의 공격으로 MDA가 생성되는 과정에서 MDA생성보다 민감하게 이 효소의 활성 저하가 나타난다는 보고가 있다. 그러나, PQ 투여로 폐조직에서 G-6-Pase 활성이 6% 밖에 저하되지 않아 MDA량의 변화에 비해 정상군과 현저한 차이

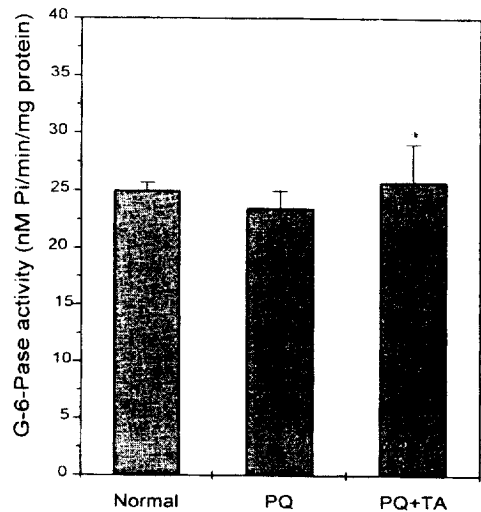


Fig. 3. Effect of taurine on pulmonary glucose-6-phosphatase activity in PQ treated SD rats. Each value is mean \pm S.E. of data from 5 rats. Significant difference between PQ and taurine treated group (* $P < 0.05$).

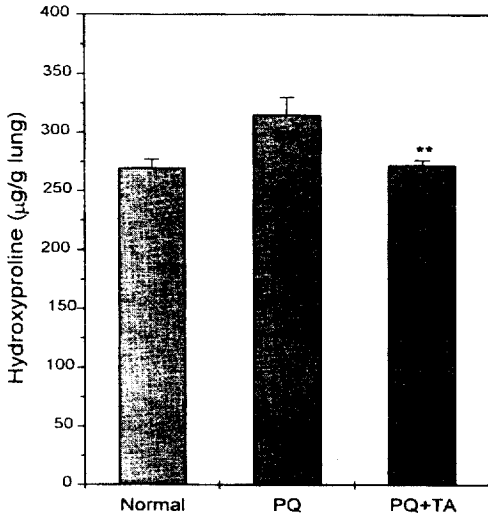


Fig. 4. Lung hydroxyproline contents of rats treated with PQ and/or taurine. Each value is mean \pm S.E. of data from 5 rats. Significant difference between PQ and taurine treated group (** $P < 0.01$).

를 보이지 못하였으며 taurine의 투여로 다시 정상치로 회복되었다.

PQ 폐독성의 최종단계가 fibrosis에 의한 호흡부전과 그로인한 사망이므로 SD rat에 PQ를 투여하여 collagen 생성을 유도하고 taurine투여가 collagen 생성에 미치는 영향을 살펴보았다(Fig. 4).

본 실험에서 측정된 hydroxyproline은 collagen 중에만 특이적으로 약 10% 정도 함유되어 있어 조직중 hydroxyproline을 정량함으로써 collagen의 양을 예측할 수 있다.

PQ 투여군에 있어서는 정상군에 비하여 20% 정도 많은 hydroxyproline이 증가 하였으며 taurine투여로 억제되어 정상으로 유의성 있게 회복되는 경향을 보였다.

고 찰

Paraquat는 자살목적으로 복용할 경우 폐독성, 신독성으로 어김없이 사망하며, 농약을 주는 과정에서 호흡기에 노출될 경우 만성적인 폐염증을 유발한다. 그동안 영국을 중심으로 독성기전 규명과 해독제 개발 연구가 꾸준히 진행되고 있으나 아직까지 해독제를 개발해 내지 못했다. 다만, 현재까지 밝혀진 PQ의 독성기전은 크게 2가지로 나눌 수 있는데 첫 번째는 PQ의 대사과정에서 생성되는 superoxide radical과 hydroxyl radical에 의한 것이며, 두 번째는 fatty acid의

composition의 변화를 유발하여 pulmonary surfactant level에 영향을 준다는 것이다. 본 연구에서는 첫 번째 독성기전을 주 독성기전으로 가설하고, radical scavenger로 연구되고 있는 taurine, aloesin, β -carotene을 시료로 독성억제 정도를 혈액생화학적인지 검색을 통하여 알아보았다. 그결과 taurine과 aloesin이 혈중 과산화지질 생성량을 정상치로 억제하였다. 이것은 세포내에서 PQ대사 과정중에 발생하는 superoxide radical과 hydroxyl radical을 직접적으로 또는 간접적으로 제거해 주어 각종 생체막의 지질과산화물을 막아 주기 때문이라고 생각되어 진다. 실질적으로 PQ대사 효소가 풍부한 간, 신장의 독성발현이 현저히 억제되었다. 특히, taurine은 투여농도가 증가함에 따라 효과도 좋아지고 독성이 나타나지 않았으며 aloesin보다 과산화지질 생성을 더 많이 억제하였다. 이것은 taurine이 생체내 구성성분이고 직접적인 활성산소 제거능력이 우수한 hypotaurine과 가역적으로 전환되며, 유독한 HOCl을 안전한 N-chlorotaurine으로 전환해 주고, 직접 free radical들을 제거해 주는 능력이 있기 때문이라고 생각 되어진다. 폐에는 산소가 항시 고농도로 존재하며, 폐 표피세포는 PQ를 능동적으로 끌어들이기 때문에 폐에서는 과산화지질의 생성과 염증유발, 섬유화 과정이 가장 두드러지게 일어난다. 따라서, 본 실험에서는 폐 조직을 분리하여 taurine의 과산화지질 생성 억제능을 측정하였다. PQ (50 mg/kg)을 투여하고 24시간이 지난후에 폐 조직에서의 과산화지질 생성은 정상조직에 비해 2배 이상 증가되어 있었다. Taurine (1215.9 mg/kg)을 4번 24시간 간격으로 전투여 한 군은 과산화지질 생성이 100%에 가깝게 억제되어 있었다. 조직이 radical의 공격으로 MDA가 생성되는 과정에서 MDA생성 보다 민감하게 G-6-Pase 효소의 활성 저하가 나타난다는 보고가 있어 G-6-Pase의 활성을 측정하여 보았다. G-6-Pase활성은 정상으로 회복되어 있었으나 MDA량의 변화에 비해 정상군과 현저한 차이를 보이지 못했으며 PQ의 폐조직 독성지표로는 그다지 예민한 인자가 아니라는 결론을 얻을 수 있었다. 세포의 지질 이중막이 손상되면 세포막 주변에 분포하고 있는 ALP는 혈중으로 유리되어 혈중 ALP의 활성은 증가하지만, 조직중의 ALP의 활성은 떨어지게 된다. Taurine을 투여한 폐조직에서는 ALP의 활성이 약 40% 회복되어 있었으며 이것은 taurine이 세포막을 보호하여 세포막의 파괴를 막아주기 때문인 것으로 사료된다. 손상된 폐조직은 복구되는 과정에서 섬유화가 진행되는데, 폐 섬유화는 호흡부전을 일으켜 사망에 이르게 한다. 따라서 PQ에 의해 일어나는 폐 섬유

유화에 대한 taurine의 억제능을 알아보기 위해 collagen 함량을 측정하였다. PQ 유도 collagen 생성에 대하여 taurine은 현저하게 억제하는 경향을 나타내었다. 이것은 taurine이 염증매개인자인 NO₂⁻, TNF-α의 생성을 억제하고 MDA생성을 억제하기 때문이라고 생각되어진다¹⁴⁾. 이상의 폐조직 실험결과로 부터 taurine은 PQ의 폐독성을 효과적으로 억제하는 것을 확인할 수 있었다. PQ는 정상군에 비해 간독성지표인 혈중 s-GPT, s-GOT를 2.5 배 정도 증가시켰고, 신독성 지표인 혈중 BUN, creatinine를 4배 증가시켰으며 taurine은 s-GPT, s-GOT, BUN, creatinine를 정상치로 회복시켰다. 이는 taurine이 PQ의 간독성 및 신독성에도 탁월한 효과가 있음을 의미한다.

요 약

제조제 paraquat의 주된 독성 기전이 인체내 대사과 정중 생성되는 superoxide anion radical (O₂⁻)에 의한 것이라고 최근 보고된 바, 항산화작용을 갖는 taurine을 가지고 paraquat 독성 경감 효과 및 억제 기전에 관한 실험을 하게 되었으며 다음과 같은 결론을 얻게 되었다. 혈액생화학적인자 분석을 종합해 보면 paraquat의 독성경감효과는 taurine, aloesin, β-carotene 중 taurine이 가장 우수하였으며, aloesin도 효과가 있는 것으로 나타났다. *In vivo*에서 taurine은 혈액생화학적 검사에서 paraquat에 의해 유도된 간독성 지표인 sGPT, sGOT치, 신장독성 지표인 BUN, creatinine치 및 조직손상의 지표인 ALP,MDA치를 정상으로 회복시켰다. 폐조직중의 MDA량, ALP 활성 및 collagen 량이 정상치로 회복이 되었다. 이로써 taurine은 paraquat의 폐독성 및 각 장기의 독성을 효과적으로 경감 시켜 준다는 사실을 확인할 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 1996년도 경희대학교 교비지원에 의한 결과이며 이에 감사드리는 바입니다

문 헌

1. Darr, D., Comb, S., Murad, S. and Pinnel, S.: Studies on the inhibition of collagen synthesis in fibroblasts treated with paraquat, *Arch. Biochem. Biophys.*, **306**(1), 267 (1993)
2. Russell, L.A.: Paraquat poisoning. toxicologic and pathologic findings in three fatal cass, *Clin. Toxicol.*, **18**, 915 (1981)
3. Dreisbach, R.H. and Robertson, W.O.: Handbook of Poisoning, 12th ed, *Lange Medical Publication, Los Altos California* (1982)
4. Robertson, B., Grossmann, G. and Ivemark, B.: *Acta Pathol. Microbiol.*, **84**, 40(1971)
5. Misra, H.P. and Gorsky, L.D.: Paraquat and NADPH dependent lipid peroxidation in lung microsome, *J. Biol. Chem.*, **256**, 9994 (1981)
6. Wyatt, A.R and Soames, M.F.: The accumulation and localisation of putrescine, spermidine and paraquat in rat lung, *Biochem. Pharm.*, **37**, 1909 (1988)
7. Autor, A.P.: Reduction of paraquat toxicity by superoxide dismutase, *Life Sci.*, **14**, 1309 (1984)
8. Banks, M.A., Porter, D.W., Martin, W.G. and Castranova, V.: Ozone-induced lipid peroxidation and membrane leakage in isolated rat alveolar macrophages: protective effects of taurine, *J. Nutr. Biochem.*, **2**, 308 (1991)
9. Schaffer, S.W., Punna, S., Duan, J., Harada, H., Hama-guchi, T. and Azuma, J.: Mechanism underlying physiological modulation of myocardial contraction by taurine, *Plenum Press, New York*, 193 (1992)
10. Huxtable, R.J.: Physiological actions of taurine, *Physiol. Rev.*, **72**, 101 (1992)
11. Trachtman, H, Del Pizzo, R., Futterweit, S. and Levine, O.: Taurine attenuates renal disease in chronic puromycin aminonucleoside nephropathy. *Am. J. Physiol.*, **262**, 117 (1992)
12. Traiger, G.J. and Plaa, G.L: Differences in the potentiation of carbon tetrachloride in rats by ethanol and isopropanol pretreatment, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **20**, 105 (1971)
13. Fiske, G.H. and Subbarow, Y.: The colorimetric determination of phosphorus, *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925)
14. Schuller, G.B., Gordon, R.E., Park, E., Pendino, K.J. and Laskin, D.L.: Taurine protects rat bronchioles from acute ozone-induced lung inflammation and hyperplasia. *Exp. Lung. Res.*, **21**(6), 877 (1995)

(1997년 1월 24일 접수)