

만성 카드뮴 중독 쥐의 신장기능 장애에 미치는 녹차 Catechin의 영향

최정화 · 박근용¹⁾ · 송대규²⁾ · 배재훈²⁾ · 박원균²⁾ · 김용진³⁾ · 이순재³⁾

대구효성가톨릭대학교 식품영양학과, 건양대학교 의과대학 내과학교실,¹⁾
계명대학교 의과대학 생리학교실,²⁾ 영남대학교 의과대학 병리학교실³⁾

Effects of Green Tea Catechin on Renal Dysfunction in Chronic Cadmium Poisoned Rats

Choi, Jeong-Hwa · Park, Keun-Yong¹⁾ · Song, Dae-Kyun²⁾ · Bae, Jae-Hoon²⁾
Park, Won-Kyun¹⁾ · Kim, Yong-Jin³⁾ · Rhee, Soon-Jae³⁾

Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyongsan 712-702, Korea
Department of Internal Medicine,¹⁾ School of Medicine, Konyang University, Taejeon 705-717, Korea
Department of Physiology,²⁾ Keimyung University, School of Medicine, Taegu 700-712, Korea
Department of Pathology,³⁾ Medicine college, Yeungnam University, Taegu 705-717, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of green tea catechin on renal dysfunction and blood pressure change in chronic cadmium poisoned rats. Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 g were randomly assigned to one normal group and three cadmium poisoned groups. Cadmium groups were classified to catechin free diet(Cd - 0C group), 0.25% catechin diet(Cd - 0.25C group) and 0.5% catechin diet(Cd - 0.5C group) according to the levels of catechin supplement. Animals were raised for 20 weeks. Cadmium were supplied as drinking water of 50ppm Cd²⁺. Morphological changes shown through a light microscope and an electro- microscope revealed the mitochondria and tubule epithelial cell edema in Cd - 0C group, but they were alleviated in catechin supplementation. The urinary β_2 -microglobulin that measured to observe the glomerular injury were higher in Cd-poisoned groups than in normal group, but they was lowered by catechin supplementation. Glomerular filtration ratios(GFR) in Cd-poisoned groups were significantly lower than in normal group, but that of catechin supplementation group was similar to normal group. This suggested that catechin protected the kidney from the functional damage. Angiotensin converting enzyme(ACE) activity and blood pressure(BP) in Cd-poisoned groups were significantly higher than in normal group. Heart rate was tended to increase in Cd-poisoned groups. The results indicate that green tea catechin supplementation on chronic cadmium-poisoned rats normalized the renal dysfunction and blood pressure system. (*Korean J Nutrition* 33(7) : 725~732, 2000)

KEY WORDS: catechin, chronic cadmium-poisoned rat, renal dysfunction, blood pressure.

서 론

최근 산업의 발달로 납, 카드뮴, 수은 등의 중금속 오염이 급증하고 그로 인한 공해병이 날로 심각하여 국내외적으로 큰 사회문제가 되고 있다. 그 중에서도 카드뮴(cadmium · Cd)은 공업적으로 전기도금, 배터리, 합금, 연료 등의 생산에 이용되어 왔고,¹⁾ 이러한 공업적인 이용의 증가로 인해 토양, 공기, 물이 오염되고 또한 인산비료와 하수, 카드뮴 함유 살균제의 이용 등을 통해 상당량이 토양에 축적되고

있다.²⁾ 우리 나라의 전국적인 카드뮴 섭취량에 대한 보고는 아직 없으나 1980~1990년 사이의 지역별 카드뮴 섭취 실태 조사에 의하면 일인당 평균 섭취량이 55~84 μ g/day로 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives³⁾에서 허용한 카드뮴에 대한 식이 섭취 잠정 기준인 57~71 μ g/day를 상회하고 있어 경계해야 할 단계에 진입했다고 볼 수 있다.

지금까지 카드뮴의 중독현상에 대하여 많은 연구가 수행되어 왔다.⁴⁻¹⁰⁾ 카드뮴의 인체중독 현상으로는 간, 위장, 중추신경의 장애 등의 급성중독 현상과 신장기능의 장애, 칼슘 흡수 장애와 골다공증 등의 골장해를 일으키는 이타이 이타이(itai-itai) 질환과 같은 만성중독증이 잘 알려져 있

채택일 · 2000년 10월 2일

¹⁾To whom correspondence should be addressed

다.³⁻⁸⁾ 또한 심장이나 혈액순환에도 영향을 주어 고혈압, 동맥경화증과 같은 심혈관계 질환과 신장장애를 유발할 수 있다는 여러 역학적 연구가 보고되고 있으며,^{8,11)} 동물이나 사람에서 카드뮴이 고혈압을 유발함은 널리 알려진 사실이며 병상이 사람의 본태성 고혈압과 극히 유사하다고 한다.¹²⁾¹³⁾ 특히 카드뮴에 의한 고혈압의 병인론적 기전으로서 신장 microsomal Na⁺-K⁺ ATPase의 억제,¹⁴⁾¹⁵⁾ 또는 신세뇨관에서 나트륨 배설의 억제 등 카드뮴 중금속의 신장기능에 대한 장애가 주로 보고되고 있다.¹⁶⁾ 또 체내 카드뮴의 축적량이 많아지게 되면 신장기능 부전과 조직손상이 오고 그 첫 신호로서 단백뇨와 함께 β₂-microglobulin, retinol-binding protein과 immunoglobulin 등 저분자 단백질의 배설이 증가하며 저농도로 장기간 카드뮴에 노출되었을 때 단백뇨와 같은 신세뇨관 기능장애를 유발한다.¹⁷⁾¹⁸⁾

한편 카드뮴의 임상적 중독 증상이 동물 체내 영양상태와 관련이 깊다는 여러 연구보고가 있다.^{19) 25)} 실험동물을 대상으로 한 카드뮴 독성에 대한 해독과 영양물질과의 관련 연구로는 카드뮴 중독이 완화되거나 체내 카드뮴 축적량을 낮출 수 있는 식이 인자로는 식이 중에 칼슘수준을 높였을 때,¹⁹⁾ 식이섬유를 공급하였을 때,²⁰⁾ 구리와 철분을 적정수준으로 섭취하였을 때,²¹⁾ 칼슘과 단백질 수준을 높인 경우 등²²⁾의 여러 연구가 있다. 그 외에도 칼슘, 단백질, 시스테인 등이 카드뮴 중독시 신장기능 장애를 완화시킨다는 보고도 있다.²³⁻²⁵⁾ 또한 최근에는 동물체내의 중금속 축적과 중독증상을 완화시키기 위해 천연물질을 이용하여 중금속을 체외로 배설시킬 수 있는 연구가 활발히 진행되고 있다.²⁶⁾²⁷⁾ 그 중에서도 녹차는 다양한 약리효과가 있는 기능성 식품으로 잘 알려져 있고 이러한 기능성은 다엽중에 함유되어 있는 여러 가지 유효성분 때문이지만 녹차에 특이적으로 많이 존재하는 catechin류에 기인한다고 볼 수 있다. Catechin은 폴리페놀계 화합물로서 녹차 중에 다량 존재하며, 이 성분은 강한 항산화 작용을 가질 뿐 아니라 금속이온과 착염을 형성하여 중금속을 제거하므로써 중금속의 독성을 해독하는 것으로 알려지고 있다. 이외에도 다엽을 이용하여 음용수의 중금속을 제거하고 동물 체내에 중금속 축적을 감소시키는 연구가 다소 있다.²⁸⁻³⁰⁾

한편 녹차의 중금속에 대한 연구는 전술한 바와 같이 다소 보고된 바 있고 또 이 등³⁰⁾이 카드뮴과 같은 중금속이 체내에 축적될 때 녹차는 중금속의 체내 흡수를 억제하고 배설을 촉진하므로써 해독작용을 갖는 것으로 보고한 바 있으나 지금까지 국내외적으로 catechin 성분 자체만을 추출하여 생체실험을 통한 카드뮴 해독작용에 대한 연구는 거의 볼 수 없다.

그러므로 본 연구에서는 만성 카드뮴 중독시 신장기능장애 및 혈압변동에 대한 녹차 catechin의 효과를 관찰코저 흰쥐에 만성적으로 카드뮴을 중독시킨 후 신장조직의 구조적, 기능적 손상 및 혈압변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 실험동물 사육

식이용 catechin은 테평양화학 중앙연구소(한국)에 의뢰하여 Matsuzaki³¹⁾등의 방법으로 crude catechin 분말을 조제하여 사용하였다.

실험동물은 무게가 100g 정도되는 Sprague-Dawley 중 숫컷을 구입하여 실험 시작하기 전 7일간 일정한 환경에서 적응시킨 후 Table 1과 같이 식수로 중류수를 공급한 정상군(Normal group)과 카드뮴 식수를 공급한 카드뮴군으로 나누고 카드뮴 투여군은 다시 식이내 catechin의 공급 함량에 따라 catechin을 넣지 않은 Cd-0C군, catechin을 0.25% 공급한 Cd-0.25C군 및 0.5% 공급한 Cd-0.5C 군으로 나누었다.

카드뮴은 일상생활에서 식수를 통해서 오염될 가능성이 높기 때문에 만성중독시키기 위해 저농도인 50ppm의 카드뮴을 함유하게 하였다. 카드뮴식수 및 식이의 기본구성은 Table 1 및 2와 같다. 식수와 식이는 자유로이 섭취케하며 20주간 사육하였다.

2. 신장조직의 병리조직학적 변화 관찰 (LM, EM)

광학현미경적 관찰을 위해 실험동물의 우측 신장을 적출하여 10% neutral formalin으로 수세하고 탈수하여 paraffin으로 포매한후 4~5μm 두께로 절단하여 Hematoxylin-Eosine 시약으로 말색시킨 후 관찰하였다.

전자현미경적 관찰을 위해 신장조직을 절취한 즉시 1mm³

Table 1. Classification of experimental groups

	Catechin	Cadmium
	(% in diet)	(50ppm Cd in drinking water)
Normal	0	-
Cd-0C	0	+
Cd-0.25C	0.25	+
Cd-0.5C	0.5	+

*Experimental and control groups fed with or without 50ppm Cd (CdCl₂ · 1/2 H₂O) in drinking water, respectively
 Normal. Cd no treatment
 Cd-0C. Cd treatment, catechin free diet
 Cd-0.25C. Cd treatment, catechin supplementation(0.25% catechin diet)
 Cd-0.5C: Cd treatment, catechin supplementation(0.5% catechin diet)

Table 2. Composition of basal diet

Ingredients	Amount(g/kg diet)
Corn starch ¹⁾	668
Casein ²⁾	180
DL-methionine ³⁾	2
Corn oil ⁴⁾	50
Salt mixture ⁵⁾	40
Vitamin mixture ⁶⁾	10
Cellulose ⁷⁾	50
kcal/kg	3850

- 1) Pung Jin Chem. Co., Seoul, Korea
- 2) Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wington, N. Z.
- 3) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
- 4) Dong Bang Oil Co., Seoul, Korea
- 5) AIN-76 Salt mixture(g/kg mixture) Calcium phosphate, dibasic (CaHPO₄ · 2H₂O) 500, Sodium chloride(NaCl) 74, Potassium citrate(16 - 17% Fe) 6, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Magnesium oxide(MgO) 24, Manganous carbonate(45 - 48% Mn) 3.5, Ferric citrate(16 - 17% Fe) 6, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53 - 55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃ · 5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate [CrK(SO₄)₂ · 12H₂O] 0.55, Sucrose finely powdered, to make 1,000
- 6) AIN-76 vitamin mixture(mg/kg mixture) : Thiamin · HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine · HCl 700, Nicotinic acid(nicotinamide in equivalent) 3,000, D-calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, D-biotin 20, Cyanocobalamin(Vitamin B₁₂) 1, Retinyl palmitate or acetate(Vitamin A) as stabilized powder to provide 400,000 IU vitamin A activity or 120,000 retinol equivalent, DL-α-tocopheryl acetate 5,000 IU, Cholecalciferol(100,000 IU, may be in powder form) 2.5, Menaquinone(Vitamin K, Menadione) 5, Sucrose finely powdered, to, make 1,000
- 7) Sigma Chem. Co. CMC(Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber), St. Louis, Missouri, U.S.A

크기로 자르고 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1M phosphate buffer, pH 7.4)으로 0~4 °C에서 2시간 전고정, 0.1M PBS로 세척한 후 1% OsO₄ 용액에 2시간 후 고정을 실시하고 같은 완충용액으로 세척하여 ethanol로 탈수하였다. Propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법³²⁾에 의한 epon 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 방치하여 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 1µm 두께로 박절하여 toluidine blue염색을 하였으며 관찰 부위를 결정한 다음 초박절은 sorval MT 6000형 초박절기에 Dupont 다이아몬드 칼로 회백색(40~60nm)의 간섭색을 나타내는 초박절편을 얻었다. Grid에 부착하여 Watson³⁹⁾ 및 Reynolds 방법³¹⁾에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H-600 투과전자현미경(Japan)으로 관찰하였다.

3. 뇨중 β₂-microglobulin 측정

동물 희생전 6일간 매일 24시간 동안의 뇨를 수집하여 DSL-6200 RIA kit(DSL Co. U.S.A)를 사용하여 1분간 γ-counter(Hewlett Packard Co. USA)하여 뇨중 β₂-microglobulin을 측정하였다.

4. 사구체 여과율(GFR) 측정

혈청과 뇨의 크레아티닌 측정은 sidcia creatinine reagent kit를 이용하였다. 혈청과 뇨의 크레아티닌 값으로부터 GFR을 구하였다.

즉,

$$GFR = \frac{\text{뇨 크레아티닌} \times 1\text{min간 오줌량}}{\text{혈청 크레아티닌 농도}}$$

5. 혈액중 angiotensin converting enzyme(ACE) 활성 측정

혈청중의 angiotensin converting enzyme(ACE) 활성은 Hugo 등³⁶⁾의 방법을 사용하였다. 10µl의 혈청과 substrate 용액을 넣고 37°C에서 30분간 항온시킨 후, sodium tungstate와 황산을 넣어 반응을 중지시켜 교반한 후 증류수를 넣고 2,000 × g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 여기에 borate buffer, TNBS(trinitrobenzene sulfate) 용액을 넣고 37°C에서 15분간 항온시키고 30분간 실온에 방치한 후 420nm에서 측정하였다.

6. 혈압 및 심박수 변화 관찰

쥐를 항온통에서 15분정도 두어 안정한 상태에서 pentobital로 약하게 마취시킨 다음 heparin이 채워진 polyethylene catheter(PE20)를 좌측대퇴동맥과 정맥에 삽입한후 다시 대퇴동맥 catheter 끝을 Statham P50 압력 transducer에 연결한 후 physiograph (Narco Biosystem Mark-IV-P) 상에서 혈압과 심박수를 측정하였다.

7. 통계처리

실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석의 결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's-HSD test에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 신장의 병리학적 소견(LM, EM)

신장은 사구체와 근위세뇨관으로 구성된 피질과 원위세뇨관 및 곡세뇨관으로 구성된 수질로 구분되어진다. 피질의 사구체는 모세혈관 다발이 보우만씨낭으로 둘러싸여져 있다. 세뇨관은 밀집되어져 있어서 간격이 거의 인정되지 않았다. 세뇨관 세포는 연한 분홍빛의 세포질과 기저부에 위치한 핵으로 구성되어 있다. 내강은 비어있는 공간으로 나타난다. 세뇨관 사이사이의 간질은 거의 보이지 않았다. 수질부위는 세뇨관의 세포의 성상은 피질과 유사하였고 간질에 간간히 충혈의 소견을 보일 뿐이었다(Fig. 1A).

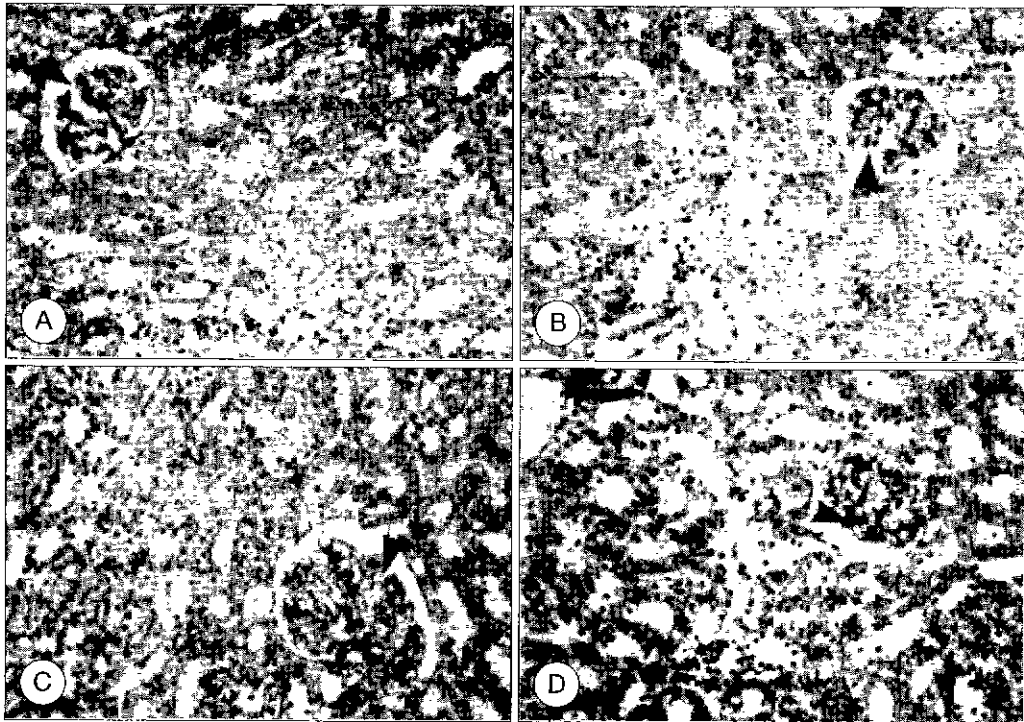


Fig. 1. Light microphotographs of renal tissue in chronic cadmium administered rats. A) Normal group. Glomerulus is encased with Bowman's capsule. The proximal tubules are packed with very scanty amount of interstitium. The cytoplasm of tubules are eosinophilic and have basally situated nuclei. B) Cd-0C group fed catechin free diet, cadmium treatment. Some of proximal tubular epithelial cells are vacuolated by edema and others are attenuated. Glomerulus is preserved well. C) Cd-0.25C group fed catechin supplementation(2.5g/kg diet), cadmium treatment. Edematous changes in proximal tubular epithelial cells are decreased when compared with Cd-0C group D) Cd-0.5C group fed catechin supplementation(5g/kg diet) cadmium treatment. Edematous changes in proximal tubular epithelial cells are decreased but the degree is not significantly differentiated to of Cd-0.25C group.

Cadmium 투여군에서는 세뇨관 상피세포의 많은 수에서 부종이 관찰되었다. 세포가 커지면서 공포화 되어서 투명하게 보였다. 다른 세포들은 정상에 비하여 다소 낮아졌다. 간질에도 국소적으로 부종이 관찰되어서 모세혈관의 확장이 균등하게 관찰되었다. 그러나 세뇨관의 배열이나 핵 그리고 기저막의 이상 등은 관찰되지 않았다. 사구체에도 모세혈관에 약간의 충혈이 보일 뿐 기저막이나 세포의 증식 소견 등은 없었다(Fig. 1B). 수질은 정상군과 차이가 없었다.

이러한 소견은 catechin을 투여하였을 때는 현저히 감소되어서 정상소견과 거의 같았다. 즉 세뇨관 상피세포의 부종이 현저히 줄어들었으며 간질의 모세혈관 확장 및 충혈도 없어졌다. 그러나 catechin의 투여량이 많아진 경우와는 차이가 없었다(Fig 1C, D).

전자현미경적으로 사구체의 기저막은 죽돌기로 덮혀져 있으며 안 쪽으로는 혈관내피세포와 매산지움세포로 구성되어 있다. 근위세뇨관 상피세포는 표면에 키가 높은 brush border로 구성되어있고 세포질에는 mitochondria가 풍부

하였다. 이들의 cristae는 규칙적이었다. 기저막은 세포질 쪽으로 주름이 심하게 지워져 있고 이들이 이루는 간격 사이사이에 mitochondria가 위치하고 있다. 몇 개씩의 lysosome도 관찰된다(Fig. 2A).

Cadmium 투여군인 Cd-0C군은 세뇨관 상피세포의 부종이 뚜렷하여서 세포질에 공포가 많이 출현하고 mitochondria에도 부종이 생겨서 cristae의 간격이 벌어지고 불규칙해 졌다. 기저막의 주름도 낮아지고 표면의 brush border도 낮아졌다. Lysosome의 숫가 현저히 증가하였고 이 물질을 탐식한 이차성 lysosome도 많이 출현하였다(Fig. 2B).

Catechin 0.25% 투여군인 Cd-0.25C군은 이러한 부종의 소견은 현저히 줄어들어서 세포질내의 공포가 거의 없어지고 기저막의 주름도 정상적으로 회복되었다. Lysosome의 수도 줄어들었다(Fig 2C).

Cd-0.5C군은 부종의 소견이 줄어든 회복세를 보이고 있으나 catechin의 양적인 면에 의한 차이는 인지할 수 없었다(Fig. 2D).

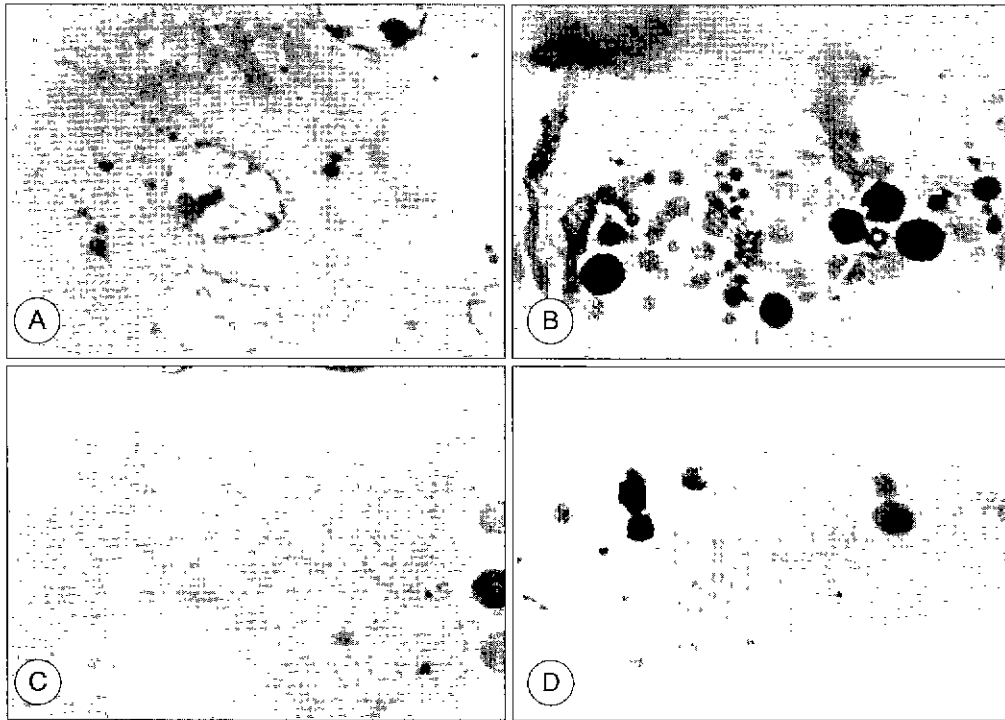


Fig. 2. Electron microphotographs of renal tissue in chronic cadmium administered rats. A) Normal group, Surface of epithelial cells have tall brush border and basal lamina infolding in the basement membrane region. B) Cd-0C group fed catechin free diet, cadmium treatment. Cytoplasmic edema causes irregular arrangement of organelles. The number of lysosomes are increased remarkably. Brush border is attenuated. C) Cd-0.25C group fed catechin supplementation(2.5g/kg diet), cadmium treatment. The edema is markedly decreased and the arrangement of mitochondria is quite normalized. The number of lysosomes are decreased significantly. D) Cd-0.5C group fed catechin supplementation(5g/kg diet), cadmium treatment. Edematous changes are quite diminished but not significantly different from Cd-0.25C group.

2. 뇨중 β_2 -microglobulin 함량

신장 세뇨관 유래 단백질 β_2 -microglobulin은 사구체 기저막을 용이하게 통과하여 세뇨관에서 거의 재흡수 되므로 β_2 -microglobulin은 신세뇨관 손상을 초기에 알수 있는 지표가 된다. 본 연구에서 만성 카드뮴 중독시 뇨중 β_2 -microglobulin을 관찰한 결과 Fig. 3와 같이 정상군(0.38 ± 0.014)에 비해 Cd-0C군(0.44 ± 0.014)은 16% 증가하였고 catechin 공급군(Cd-0.25C: 0.41 ± 0.019 , Cd-0.5C: 0.40 ± 0.009)은 정상군 수준으로 감소되어 catechin이 만성 카드뮴 중독 흰쥐 신장의 세뇨관 손상을 완화시킴을 알 수 있었다.

3. 사구체 여과율(GFR)

카드뮴 중독으로 인한 신장기능 이상을 관찰하기 위한 지표로서 사구체 여과율(creatinine clearance glomerular filtration ratio, GFR)를 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 사구체 여과율은 정상군(2.03 ± 0.08)에 비해 Cd-0C군(1.75 ± 0.07)만이 14% 감소하였고 catechin 공급군(Cd-0.25C군: 2.02 ± 0.08 , Cd-0.5C군: 1.97 ± 0.05)은 정상군 수준으로 감소되어 만성카드뮴 중독시 사구체 여과율이 감

소되는 것을 catechin이 개선시키는 효과가 있음이 나타났다.

4. 혈액중 angiotensin converting enzyme(ACE) 활성

혈압상승작용을 갖는 angiotensin II를 생성시키는 효소인 angiotensin I converting enzyme(ACE)을 관찰한 결과(Fig. 5) 정상군(56.8 ± 6.1)에 비해 Cd-0C군(105.2 ± 10.3)에서는 85%의 현저한 증가를 보였으나 catechin 첨가군인 Cd-0.25C군(62.7 ± 1.0)과 Cd-0.5C군(67.0 ± 2.3)에서는 정상군 수준으로 감소하여 catechin이 ACE 활성 억제효과가 있는 것으로 나타났다.

5. 혈압(blood pressure)과 심박수(heart rate)

만성카드뮴 중독에 따른 혈압 변화를 관찰한 결과(Table 3) 최고, 최저 혈압 모두 정상군에 비해 Cd-0C군에서 증가되었으나 Cd-0.5C군은 Cd-0C군 비하여 유의적으로 감소되었다($p < 0.05$). 따라서 catechin이 혈압을 안정시켜 주는 역할을 하는 것이 관찰되었다. 또 심박수를 관찰한 결과(Table 3) 정상군에 비해 카드뮴 투여군에서 다소 증가하였으나 실험군간의 유의성은 없었다. 따라서 catechin은

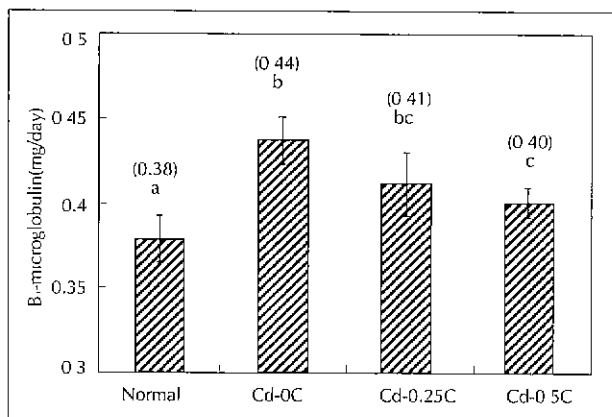


Fig. 3. Effects of green tea catechin on urinary β_2 -microglobulin levels in cadmium administered rats for 20 weeks. Values are the means \pm SE (n = 10). Those with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 1.

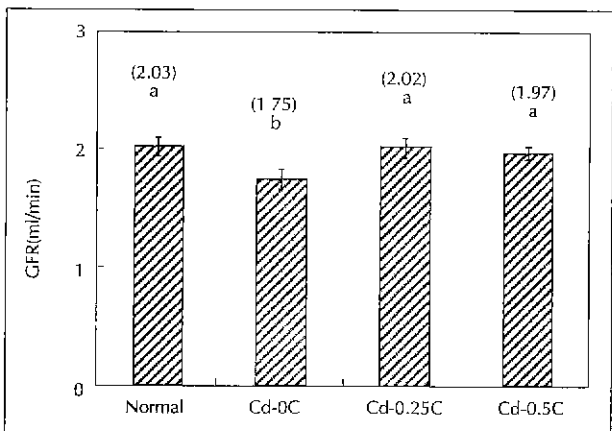


Fig. 4. Effects of green tea catechin on GFR levels in cadmium administered rats for 20 weeks. Values are the means \pm SE (n = 10). Those with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 1.

혈압과 더불어 심박수를 안정화 시키는 역할을 하였다.

본 연구에서 세뇨관 단백질 β_2 -microglobulin을 측정된 결과 정상군에 비해 Cd-0C군은 유의적으로 증가하였으나 catechin 공급으로 감소하는 경향이있으며, 사구체 여과율도 정상군에 비해 카드뮴 투여군에서 유의적으로 감소하였으나 catechin공급으로 정상군 수준으로 증가하였다. 이는 catechin 공급시 신장기능 저하를 완화시킴을 알 수 있었다. 카드뮴은 신장의 세뇨관에 먼저 영향을 미치고 2차적으로 사구체 손상을 일으킨다고 한다.³⁶⁾ 따라서 카드뮴에 만성적으로 노출되면 신장의 세뇨관에 이상이 생겨 노로의 단백질 배설이 늘어나고 사구체가 손상되어 혈액의 creatinine 농도가 증가하고 노의 creatinine농도가 감소하여

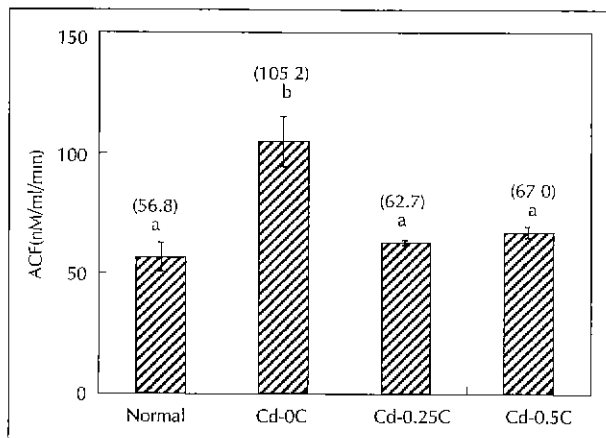


Fig. 5. Effects of green tea catechin on serum angiotensin converting enzyme(ACE) activities in cadmium administered rats for 20 weeks. Values are the means \pm SE (n = 10). Those with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 1.

Table 3. Effects of green tea catechin on blood pressure and heart rate changes in cadmium administered rats for 20 weeks

Group	Blood pressure		Heart rate (beats/min)
	systole	diastole	
	(mmHg)		
Normal	108.00 \pm 7.24 ^a	79.00 \pm 1.58 ^a	180.33 \pm 19.01 ^{NS}
Cd-0C	125.20 \pm 4.84 ^b	88.40 \pm 1.78 ^b	193.44 \pm 5.91
Cd-0.25C	114.50 \pm 7.44 ^{ab}	80.33 \pm 4.39 ^{ab}	191.67 \pm 18.09
Cd-0.5C	103.6 \pm 10.67 ^a	75.60 \pm 6.44	188.40 \pm 7.70

All values are mean \pm SE (n = 10). Those with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 1

사구체 여과율이 감소하게 된다고 알려져 있다.³⁾

한편 신장의 구조적 손상을 관찰하기 위해 병리조직학적 검색을 한 결과 광학현미경에서는 신장의 Cd-0C군에서는 신세뇨관 상피세포에 약간의 부종이 나타났으나 catechin을 투여한 군에서는 catechin 비공급 카드뮴군에서 보인 부종의 소견 등은 관찰되지 않았으며 정상군과 비교하여 특별히 다른 소견은 인정되지 않았다. 전자현미경에서는 Cd-0C군은 사구체에는 이상 소견이 없었으나 세뇨관 상피세포와 mitochondria의 부종이 나타나고 cristae가 짧아졌다. 배열 역시 불규칙하였고 기저막의 infolding도 낮아졌다. 세포질내에 lysosome이 증가되어 나타났으며 brush border도 낮아지고 불규칙해져 있었다. 이러한 상해의 소견들은 catechin을 투여한 군에서는 현저히 감소되었다. 이러한 조직학적 소견은 신장조직의 기능적 손상상태 관찰과 비슷한 양상을 보임으로써 만성 카드뮴 중독에서 신장조직의 기능적, 조직적 손상이 일어나며 이를 catechin이 완화시

켜줍을 알 수 있었다.

동물이나 사람에게서 카드뮴 중독시 고혈압이 유발됨은 널리 알려진 사실이며, 이때의 증상이 사람의 본태성 고혈압과 극히 유사하다고 한점과 카드뮴에 장기간 폭로되면 신장 및 간기능이 저하되고 bone pain과 골연화증을 특징으로 하는 이따이 이따이(itai-itai)등이 일어난다고 하였다. 특히 카드뮴에 의한 병인론적 기전으로서는 신장에 축적된 카드뮴에 의한 renal microsomal $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP ase의 억제 또는 신세뇨관의 Na^+ 재흡수 능력의 억제 등 신장기능과 관련된 것이 있다. 또한 Hong 등³⁰⁾은 혈소판 응집반응의 향진이 동맥혈압 상승과 관련이 있을 것이라고 하였다. 또 Song³⁹⁾은 카드뮴에 의한 흰쥐 후지혈관의 향진은 혈관벽의 기능적 변동이 크게 관여하며 수축성 물질에 대한 혈관 반응도와는 다른 기전에 의한다고 시사한 바 있다.

본 연구에서 승압제 효소인 angiotensin converting enzyme(ACE)의 활성을 관찰한 결과 정상군에 비하여 Cd-0C군에서는 유의적으로 증가하였으나 녹차 catechin의 공급으로 정상군 수준으로 감소하였다. 이는 Kameda 등³⁸⁾과 Funayama 등⁴⁰⁾이 감잎(persimmon leaf)에서 분리한 flavonoid 물질들이 ACE 저해 활성을 가지며 Cho 등⁴¹⁾이 녹차로부터 분리한 flavon-3이 화합물이 ACE 저해 활성을 갖는다는 보고들과 일치하였다.

또 최저혈압과 최고혈압을 관찰한 결과 정상군에 비해 카드뮴군에서 모두 증가하였으나 catechin 공급으로 인해 정상군 가까운 수준으로 감소하였다. Schroeder,⁷⁾ Perry와 Schroeder⁴²⁾는 카드뮴이 고혈압을 발생시키며, 정상인에 비해 고혈압을 가진 사람들의 노와 신장에서 카드뮴 함량이 많았다고 보고하였다. 또한 Friedman⁴³⁾은 적은 양의 카드뮴 폭로시 암컷쥐에서 심장수술시 혈압이 증가됨을 관찰하였다. 심박수를 관찰한 결과 혈압의 변동과 유사한 경향이 있으나 실험군간의 유의적인 차이는 없었다. 따라서 만성 카드뮴중독은 신기능 장애로 인해 혈압상승을 유발하였으나 catechin의 공급으로 신장기능을 회복시킴으로서 혈압 기전 또한 향상시켰다.

요약 및 결론

만성 카드뮴 중독 흰쥐에서의 신장기능 장애 및 혈압변동과 이에 대한 녹차 catechin의 효과를 관찰하고자 하였다. 실험동물은 100g 내외의 sprague-Dawley종 흰쥐를 대상으로 카드뮴을 투여하지 않은 정상군과 카드뮴 투여군으로 나누었다. 카드뮴 투여군은 다시 식이내 catechin 공급 수준에 따라 Cd-0C군(catechin 비공급군), Cd-0.25C군(ca-

techin 2.5g/kg of diet), Cd-0.5C군(catechin 5g/kg of diet)으로 나누어 20주간 자유섭식시켰다. 카드뮴은 50ppm Cd^{2+} 농도의 식수로 자유로이 공급하였다. 실험동물은 사육후 신장조직의 구조적·기능적 장애와 혈압 및 심박수 변동을 관찰함으로써 녹차 catechin의 효과를 관찰하였다.

1) 신장조직의 병리조직학적 상태를 광학현미경과 전자현미경으로 각각 관찰한 결과 카드뮴 투여군(Cd-0C)에서 신장피세포의 부종 및 미토콘드리아의 부종등이 경하게 발견되었으나 catechin 공급군에서 손상정도가 다소 완화되었다.

2) 세뇨관 손상지표인 β_2 -microglobulin 측정 결과는 정상군에 비해 카드뮴 투여군에서 증가하였으나, catechin 투여군에서는 감소하였다. 또 사구체 여과율은 정상군에 비해 카드뮴군에서 유의적으로 감소되었으나 catechin 투여군에서는 정상군과 비슷하여 catechin이 신장의 기능적 손상을 억제시킴을 알 수 있었다.

3) 혈압 변화를 관찰한 결과 정상군에 비해 카드뮴 투여군에서 angiotensin converting enzyme 활성과 혈압이 증가하였으나 catechin 공급군에서 모두 정상군 수준으로 감소하였다. 심박수는 다소 증가하였으나 실험군간의 유의적인 차이는 없었다.

결론적으로 녹차 catechin은 카드뮴 중독으로 인한 신기능 장애를 개선시키고 혈압을 정상화 시키는 작용이 있음이 규명되었다.

■ 감사의 글

이 논문은 1997년도 한국학술진흥재단의 학계간 연구지원(D00075)에 의해 수행된 연구결과와 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Page AL and Chang AC. Cadmium. Spring-Verlag Berlin Heidelberg, Germany 33-75, 1986
- 2) Piscator M. Dietary exposure to cadmium and health effect: impact of environmental changes. *Environ Health Perspect* 63: 127-132, 1985
- 3) Prodan LJ. Cadmium poisoning 1. The history of cadmium poisoning and uses of cadmium. *J Ind Hyg* 14: 132-155, 1932
- 4) Joint FAO/WHO Expert committee on Food Additives. WHO Tech Rep Ser 505. 20-24, 1972
- 5) Kazantzis G. Renal Tubular dysfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environ Health Perspect* 28: 155-159, 1979
- 6) Morita S. Defense mechanisms against cadmium toxicity. III. Effect of pretreatment with a small oral dose of cadmium on metallothionein synthesis after a large oral dose of cadmium in mice. *Japan J Pharmacol* 35(2): 153-161, 1984
- 7) Schroeder HA, Nason AP, Prior RE, Reed JB and Haessler WT. Influence of cadmium in renal ischemic hypertension in rats. *Am J Physiol* 214(3): 469-474, 1968

- 8) Axelsson B and Piscator M. Renal damage after prolonged exposure to cadmium. An experimental study. *Arch Environ Health* 12: 360-373, 1966
- 9) Larssen SE and Piscator M. Effect of cadmium on skeletal tissue in normal and calcium-deficient rats. *Isr J Med Sci* 7(3): 495-498, 1971
- 10) Krejs CJ, Nizar MJ and Zerweck JE. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on calcium and magnesium absorption in the healthy human jejunum and ileum. *Am J Med* 75: 973-976, 1983
- 11) Murakami M, Cain K and Webb M. Cadmium-metallothionein-induced nephropathy. A morphological and autoradiographic study of Cadmium distribution, the development of tubular damage and subsequent cell regeneration. *J Appl Toxicol* 3(5): 237-244, 1983
- 12) Third GS, Karreman G, Stephan KF and Blakemore WS. Vascular reactivity and mechanical properties of normal and cadmium-hypertensive rabbits. *J Lab Clin Med* 76(4): 560-568, 1970
- 13) Schroeder HA. Cadmium as a Factor in Hypertension. *J Chronic Dis* 18: 647-656, 1965
- 14) Rifkin RJ. In vitro inhibition of Na⁺-K⁺ and Mg²⁺ ATPase by mono, di and trivalent cations. *Proc Soc Exp Biol Med* 120(3): 802-804, 1965
- 15) Nechay BR and Saunders JP. Inhibition of renal adenosine triphosphatase by cadmium. *J Pharmacol Exp Ther* 200(3): 623-629, 1977
- 16) Lener J and Musil J. Cadmium influence on the excretion of sodium by kidneys. *Experientia* 27(8): 902, 1971
- 17) Lopez-Antigüez M, CAMEAN A, Gonzalez G and Repetto M. Cadmium concentrations in human renal cortex tissue(Necropsies). *Environ Contam Toxicol Bull* 54(6): 841-847, 1995
- 18) Ikeda MC, Moon CS, Xiang ZW, Iguchi HI, Watanabe T, Iwami O, Imaj Y and Shimbo S. Urinary α_2 -microglobulin, β_2 -microglobulin, and retinol-binding protein levels in general populations in Japan with references to cadmium in urine, blood, and 24-hour food duplicates. *Environmental Research* 70: 35-46, 1995
- 19) Masanori Ando, Yasuyoshi Sayato, and Toshiaki Osawa. Studies on the Disposition of Calcium in Bones of Rats after Continuous Oral Administration of Cadmium. *Toxicology and applied pharmacology* 46: 625-632, 1978
- 20) Kim MK and Paek JE. Effect of Dietary Fibers in Rice and Barye on Lipid and Cadmium Metabolism in the Rat. *Korean J. Nutrition* 30(3): 252-265, 1997
- 21) Kim AJ and Sung CJ. The Effects of Dietary Cu and Fe on the Cd Accumulation in Long-Term Cd Poisoned Rats. *Korean J. Nutrition* 29(1): 70-76, 1996
- 22) Kwan OR and Kim MK. The Effect of Dietary Protein and Calcium Levels on Metallothionein and Histopathological Changes during Cadmium Intoxication in Rats. *Korean J Nutrition* 25(5): 360-378, 1992
- 23) Kim MK and Seo MS. Effect of Dietary Protein Level and Source on Cadmium Intoxication in Rats. *Korean J. Nutrition* 29(6): 578-589, 1996
- 24) Lee HY and Kim MK. Effect of Dietary Cadmium and Protein Levels on the Body Protein Metabolism and Cadmium Toxicity in Growing Rats. *Korean J. Nutrition* 21(6): 410-420, 1988
- 25) Ryu JM and Kim MK. Effect of Dietary Cystein Level on Cadmium and Lead Toxicity in Rats. *Korean J Nutrition* 29(6): 597-607, 1996
- 26) Kim HB, Lee WC, Kim SY, Lee YK, and Bang HS. Effect of Mulberry Leaf Tea for the Removal on Cd and Pb in Drinking Water. *Korean J Seric Sci* 40(1): 17-22, 1998
- 27) Kim MJ and Rhee SJ. Effect of Korean Green Tea, Oolong Tea and Black Tea Beverage on the Removal of Cadmium in Rat. *J Korean Soc Food Nutr* 23(5): 784-791, 1994
- 28) Yoon YH and Rhee SJ. Effect of Korean Green Tea, Oolong Tea and Black Tea Beverage on the Antioxidative Detoxification in Rat Poisoned with Cadmium. *Korean J Nutrition* 27(10): 1007-1017, 1994
- 29) Suzuki KT, Yaguchi K, Ohnuki R, Kishikawa M, Yamada YK. Extent of cadmium accumulation and its effect on essential metal in liver, Kidney and body fluids. *J toxicol Environ Health* 11: 713-726, 1983
- 30) Rhee SJ and Jun SY. Effect of Dietary Selenium of Metallothionein Synthesis and Antioxidative Detoxification Mechanism in Cadmium Administered Rats. *Korean J Nutrition* 26(3): 286-298, 1993
- 31) Matsuzaki T, and Hata Y. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59: 129-134, 1985
- 32) Luft JH. Improvement in epoxy resin embedding method. *J Biophys Biochem Cytol* 9: 409-414, 1961
- 33) Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol* 475-479, 1958
- 34) Reyonold ES. The use of lead citrate at high PH as an electron stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 7: 208-212, 1963
- 35) Hugo M, Neels ME, Van Sande and Simon L. Sensitive colorimetric assay for angiotensin converting enzyme in serum. *Clin Chem* 29(7): 1399-1403, 1983
- 36) Fowler BA and Nordberg GF. The renal toxicity of cadmium metallothionein: Morphometric and X-ray microanalytical studies. *Toxicol Appl Pharmacol* 46: 609-623, 1978
- 37) Hong KW and Lee SW. Cadmium Toxicity and Platelet Aggregation. *J of Busan Med Assoc* 18(9): 29-33, 1982
- 38) Song CS and Hong KW. A Study of Mechanism Involved in Cadmium-induced Platelet Aggregation. *Korean J of Pharmacology* 20(1): 41-46, 1984
- 39) Kameda K, Takaku T, Okuda H and Kimura Y, Okuda T, Hatano T, Agata I and Arichi S. Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J Nat Prod* 50(4): 680-683, 1987
- 40) Funayama S and Hikiro H. Hypotensive principles of diospyros kaki leaves. *Chem Pharm Bull* 27(11): 2865-2868, 1979
- 41) Cho YJ, An BJ and Choi C. Inhibition Effect of Against Angiotensin Converting Enzyme of Flavan-3-ols isolated Korean Green Tea. *Korean J Food Sci Technol* 25(3): 238-242, 1993
- 42) Perry HM Jr and Schroeder HA. Concentration of Trace Metals in Urine of Treated and Untreated Hypertensive Patients Compared With Normal Subjects. *J Lab Clin Med* 46: 936, 1955
- 43) Friedman PA and Gesek FA. Cadmium uptake by kidney distal convoluted tubule cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 128(2): 257-263, 1994