

실험적 납중독 랫드의 조직병리학적 관찰

권오덕¹ · 신태균*

전북대학교 수의과대학, 제주대학교 농과대학 수의학과*

Histopathological Studies on the Experimental Lead Poisoning in Rats

Oh-deog Kwon¹ and Tae-kyun Shin*

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Korea

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Cheju National University, Korea*

ABSTRACT: This study was undertaken to find out the effect of lead on histopathological changes in rat. Thirty female Wistar rats, 7 weeks old, were divided into a control and two experimental groups. The control group was received normal diet. The two experimental groups were received diets contaminated artificially with 10 or 5,000 $\mu\text{g/g}$ of lead as lead acetate, respectively. Rats were dissected on the 4th or 8th week of experimental periods. In 5,000 $\mu\text{g/g}$ of lead administration group, histopathological changes were observed in the kidney, liver, heart, brain and lung from the 4th week of experiment. Desquamation of renal epithelia and inclusion bodies in the epithelia of renal tubules were demonstrated in the kidneys. But the liver did not show acid-fast inclusion body. Degeneration of cardiac muscles were seen. The number of mast cells were increased in the cardiac muscles. Darkly stained neurons in the cerebral cortex, some inflammatory cells around meningeal vessels and distended Virchow-Robin spaces were observed.

Key words: lead, rat, histopathology

서 론

납은 기원 전 4000년경부터 인류가 이용해온 중금속으로 그 형태나 근원을 막론하고 가장 흔히 발견되는 독물 중의 하나이다²⁰. 인간이 수 천년간 납을 이용해 오면서 많은 산업의 발달을 가져왔으나 그 이면에는 납이 환경에 오염·축적되는 결과를 초래하였으며, 특히 근년에는 급속한 산업화·공업화와 함께 오염의 정도가 더욱 심화되어 전 세계적으로 심각한 환경문제로 대두되고 있는 실정이다^{3,18,19,28}. 인간에 의해 생산되거나 사용되어지는 다른 많은 물질들과는 달리 납은 일단 환경에 오염·축적되면 거의 제거하기가 불가능한 물질로 알려져 있다²⁰. Schwarz²⁴는 랫드에서 저농도의 납은 성장과 생리적 활성에 필요한 어떤 중요한 기능을 가진다고 하였으나, 그 확실한 작용이나 중요성에 관해서는 아직 밝혀지지 않고 있으며, 현재까지는 사람이나 동물의 건강에 유해한 축적성독물로 알려져 있다^{2,17,31,37}. 이러한 납의 근원으로는 폐인

트, 배터리, 농약, 세라믹, 매연, 탄환 등 수없이 많으며^{6,13,19,22,25,32}, 특히 환경에 오염된 납은 직접 또는 대기, 하천수, 토양 등을 매개로 하여 농산물이나 사료에 오염되어 전세계적으로 사람과 동물의 건강을 위협하고 있는 실정이다^{3,4,7,11,12,20,31,35,42}.

섭식된 납은 주로 소장벽을 통해 흡수되며 흡수된 납의 일부는 오줌, 유즙, 담즙 등을 통해 배설될 수 있지만^{8,31} 항상성을 유지하지 못하고 나머지는 체내에 축적되며, 특히 과량의 납이 체내에 축적될 경우에는 신장기능장애^{15,31,40}, 간기능장애^{22,31}, 신경장애^{20,29,38}, 면역기능저하^{1,24}, 빈혈^{31,41}, 위장염^{31,42}, 태아기형 및 유산^{28,31} 등을 유발하여 치명적인 결과를 초래할 수 있다

흔히 이용되는 납중독의 부검진단에는 장기조직내 납함량 측정^{22,26,30,31,43,44}과 아울러 신장과 간내 봉입체의 증명^{9,15,16,27,33,36,39,42} 등이 가치 있다고 알려져 있으나, 이러한 조직내 봉입체의 출현은 동물에 따라 차이가 있다는 것을 시사한 바 있다^{5,9,10}. 따라서 본 연구에서는 랫드에 있어서 납이 각 장기조직의 병리조직학적 변화에 미치는 영향을 밝힘으로써 납중독

¹Corresponding author.

의 진단에 이용할 수 있는 기초적 자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물

생후 5주령의 Wistar종 rat 암컷 30마리를 국립보건안전연구원으로부터 분양받아 2주간 적응사육을 실시한 후 대조군과 실험군(저용량투여군 및 고용량투여군)으로 분군하여 각 군별로 10마리씩 배치하였다.

실험방법

마우스(쥐)용 배합사료를 구입하여 납, 아연, 구리, 철 및 칼슘함량을 측정(납:4.43, 아연: 56.78, 구리: 16.19, 철: 345.99, 칼슘: 11,697.71 $\mu\text{g/g}$)하여 이것을 기초사료로 사용하였다(대조군). 이 기초사료에 초산납(lead acetate, Junsei Chemical, Japan)을 첨가하여 납의 실험량이 각각 10(저용량 투여군) 및 5,000(고용량 투여군) $\mu\text{g/g}$ 이 되도록 배합하여 실험사료로 사용하였다. 사료 급여기간은 8주간으로 모든 실험동물은 각 군별로 격리 사육하면서 실험사료와 증류수를 자유급여 시켰다.

조직학적 검사

실험동물은 실험 4주째 및 8주째에 각 군별로 5마리씩 ether마취 후 해체하여 신장, 간, 심장, 대뇌 및 폐를 채취하여 조직학적 검사를 위해 10% 포르말린에 고정하였다. 포르말린에 고정된 조직은 탈수 과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 포매된 조직을 5 μm 두께로 절편을 만들어 hematoxylin-eosine 염색을 실시하였다. 조직내 납중독의 특징적인 붕입체를 관찰하기 위하여는 Ziehl-Neelsen 염색²²을 실시하였다.

결 과

1. 고용량(5000 $\mu\text{g/g}$) 투여군

신장: 투여 4주째 신장 피질부에서 세뇨관 상피세포의 탈락과 세뇨관내 청자색의 물질이 관찰되었다(Fig 1a). 8주째의 신장에서는 세뇨관 상피세포의 탈락이 현저하게 관찰되었으며 손상된 세뇨관 주위에 염증세포의 침윤과 섬유아세포의 증식이 관찰되기도 하였다. 납투여 후 4주째부터 신세뇨관 상피세포에서 항산성반응을 보이는 붕입체가 관찰되기 시작하여(Fig 1b), 8주째의 신장에서도 지속적으로 관찰되었으며 붕

입체의 모양은 점점 분명하게 나타났다.

간: 투여 후 4주째의 간조직에서는 eosine에 진하게 염색되는 간세포의 수가 증가되는 경향이었으며, 이와 같은 소견은 8주에서도 비슷한 소견으로서 분화되고 있는 양상을 나타내었다. 그러나 간세포내 붕입체는 확인할 수 없었다.

심장: 4주째에 심장내 충·출혈 및 심근세포의 변성이 경미하게 확인되었다. 투여 후 8주째의 심장조직에서는 심근의 변성부위가 증가하였으며, 변성부위 주변에서는 세포침윤이 관찰되었다(Fig 2a). 납을 투여한 후 4주째 랫드의 심장에서는 심외막하 및 심근 사이 혈관주위에서 비만세포의 침윤이 대조군에 비하여 현저하였다(Fig 2b).

뇌: 납투여 후 4주째부터 대뇌피질에서는 신경세포의 수축 및 농염된 신경세포가 관찰되었으며, 수막하 혈관주위에 세포침윤이 일부 관찰되었다(Fig 3a). 또한 Virchow-Robin space의 확장이 인정되었다(Fig 3b). 이와 같은 변화는 8주에서도 유사한 소견을 나타내었다.

폐: 납투여 후 4주째부터 폐에서는 간질내 세포의 침윤 등이 경미하게 관찰되었으며, 이와 같은 간질내 세포침윤 소견은 납중독에 의한 혈관내피세포의 투과성 향진에 의한 것으로 생각된다.

2. 저용량 (10 $\mu\text{g/g}$) 투여군

납을 저용량(10 $\mu\text{g/g}$) 투여한 실험군에서는 8주째에 신세뇨관상피의 탈락, 심근세포의 변성 등의 조직변화를 나타내었으나 그 정도는 고용량 투여군에 비해 경미하였다.

고 찰

환경에 오염된 납이 식물, 사료, 음료수, 공기 등을 통하여 체내에 흡수될 때에는 인축의 건강에 유해하다는 것은 널리 알려진 사실이다.^{4,7,11,12,35,42} 체내에 흡수된 납은 특히 신장의 변성을 초래하고^{27,40,42,44} 곡세뇨관 상피세포에 핵내붕입체를 형성한다고 알려져 있다.^{9,10,15,16,27,33,36,39,42} 본 실험에서도 신장에서 상피세포의 탈락, 간질 조직의 증식, 붕입체의 형성 등은 선인들의 보고와 유사하였다. 단지 중독 후 시간이 경과할수록 근위곡세뇨관 뿐만 아니라 원위곡세뇨관 상피세포에서도 붕입체가 확인되었다. 이와 같은 소견은 만성 중독의 경우 배설되는 과정 중 근위곡세뇨관 뿐만 아니라 원위곡세뇨관까지도 영향을 받을 수 있음을 암시하고 있다고 생각된다. 또한 납 중독시에는 신장 이외에 간 및 다른 장기에서도 붕입체가 관찰된

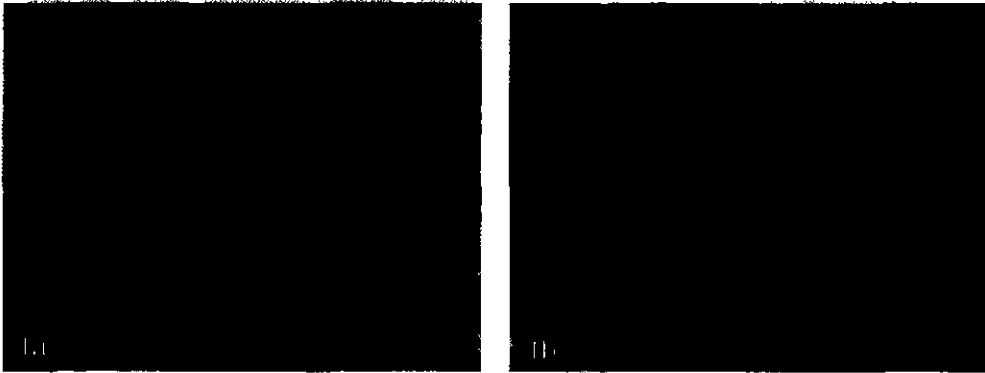


Fig 1. Kidneys of rat with lead poisoning(4 weeks after lead(5000 $\mu\text{g/g}$) administration). a: Desquamation of renal epithelia is evident in the kidneys of affected rats. H-E staining. Original magnification $\times 132$. b: Inclusion bodies (arrows) are well recognized in the epithelia of renal tubules of rats with lead poisoning(4 weeks after lead (5000 $\mu\text{g/g}$) administration). Acid-fast staining. $\times 132$.

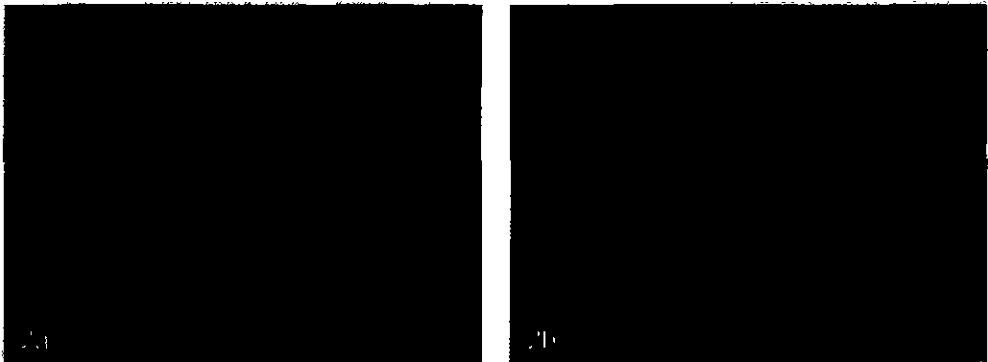


Fig 2. Heart of rat with lead poisoning(4 weeks (b) and 8 weeks (a) after lead(5000 $\mu\text{g/g}$) administration) a: Degeneration of cardiac muscles is seen in the inflammatory lesions. H-E staining. Original magnification $\times 132$. b: Some mast cells appeared around vessels and cardiac muscles. Acid-fast staining. $\times 132$.



Fig 3. Brain of rat with lead poisoning(4 weeks after lead(5000 $\mu\text{g/g}$) administration). a: Low magnification of cerebral cortex shows darkly-stained neurons in the cerebral cortex and some inflammatory cells around meningeal vessels. H-E staining. Original magnification $\times 33$. b: Higher magnification of photo (A) shows that Virchow-Robin spaces are distended. $\times 132$.

다는 보고^{15,16,27}도 있으나, Hamir *et al.*¹⁰은 납에 중독된 개의 간에서 고농도의 납이 검출되었음에도 불구하고 간내 봉입체는 검출되지 않았다고 하였다. 본 실험에서도 신장을 제외한 간, 뇌, 심장 등에서는 전형적인 봉입체를 확인할 수 없었다. 권 등⁴³은 랫드에 5000 µg/g의 납을 8주간 투여한 결과 간과 심장에서 각각 12.43±2.49, 77.88±36.58 µg/g의 납이 검출되었다고 한 것으로 보아 이들 장기에서는 조직내 납함량을 분석하는 것이 진단적 가치가 높다고 생각된다.

납 중독시 심장의 조직변화에 대하여는 심외막의 출혈, 심근변성 등이 알려져 있으나^{15,31} 발병기전에 대해서는 아직 명확하게 밝혀진 것이 없다. 랫드를 이용한 본 실험에서 5000 µg/g의 납 투여군 심장을 조사한 결과 심근의 변성 및 혈관주위 세포침윤 등 혈관의 변성 소견은 지금까지의 연구 결과와 유사한 경향이었다. 그러나 납 투여 후 4주째 랫드의 심장조직을 항산화 염색한 결과 대조군의 심장에 비해 mast cell의 증가가 현저하였다. 정량적 분석은 곤란하였으나 정상 대조군의 심장내에서 관찰되는 mast cell 수(10개×10 현미경시야)보다 납 투여 랫드 심장내에서 mast cell의 수(평균 20개)가 2배 증가하였으며, 8주째에는 수적으로 약간 감소되는 경향이 있으나 실험기간 중 대조군 보다 약 2배의 mast cell이 심장 조직 사이에서 확인되었다. 이러한 결과는 혈관확장과 밀접한 관련성을 갖는 mast cell의 기능을 고려해 볼 때 납중독 후 심장기능의 이상 또는 심근의 변성과 밀접한 관련성을 가질 것으로 생각되며, 납중독 후 관찰되는 심외막하 출혈 소견도 mast cell에서 유리되는 혈관조절인자와 밀접한 관련을 가지며 이는 특히 급성중독시 쇼크를 유발하여 급사의 원인이 될 수도 있을 것으로 생각된다.

납 중독시 뇌 조직의 변성은 뇌연화, 뇌수종 및 혈관벽의 변성, astroglitosis 등 다양한 형태로 나타나며, 이들의 특징적 소견은 혈관계의 투과성항진과 밀접한 관련성을 가지고 있다고 알려져 있다^{15,16,31,44}. 랫드를 대상으로 한 본 실험에서는 뇌의 수막하 혈관주위의 세포침윤, 일부 신경세포의 진한 염색 등의 변성 소견이 확인되었으나, 전형적인 뇌수종은 확인하기 곤란하였다. 그러나 신경세포의 변성 및 혈관 투과성항진의 결과 혈장내 fibronectin 등의 단백질은 뇌내 신경아교세포의 자극을 통해 염증성 cytokine을 분비하게 하여 뇌조직의 손상을 촉진시킬 수 있을 것으로 생각되며 향후 면역염색을 통한 확인이 필요할 것으로 생각된다. 더구나 납은 신생조직의 혈관형성 특히 뇌내 모세혈관의 형성을 저해하는 것으로 알려져

있으며 이 과정 중에는 신호전달 효소인 protein kinase C가 관여한다고 보고되고 있다^{44,21}. 이와 같은 현상은 납 중독의 심각성이 발육중인 혈관 조직에 이상을 초래할 뿐만 아니라 충분히 분화된 뇌조직에서도 혈관의 투과성항진 등 많은 기능장애를 초래하는데 관여할 것으로 추정된다.

결론

납중독이 장기조직에 미치는 영향을 규명하고자 랫드를 대상으로 사료에 납의 실험량이 각각 10 및 5,000 µg/g되게 첨가하여 각 군별로 격리 사육하면서 실험 4주째 및 8주째에 도살하여 신장, 간, 심장, 대뇌 및 폐를 채취한 후 조직병리학적 검사를 실시하였던 바 결과를 요약하면 다음과 같다.

5000 µg/g투여군의 경우 신장에서 4주째부터 세뇨관 상피세포의 탈락과 항산화반응을 보이는 봉입체가 관찰되었다. 그러나 간조직에서는 실험 전 기간동안 간세포내 봉입체는 확인할 수 없었다. 심장에서는 4주째부터 심근세포의 변성과 심외막하 및 심근 사이 혈관주위에서 비만세포의 침윤이 대조군에 비하여 현저하였다. 뇌조직에서는 4주째부터 대뇌피질에서 신경세포의 수축과 농밀된 신경세포, 수막하 혈관주위에 세포침윤 및 Virchow-Robin space의 확장이 인정되었다. 폐에서는 4주째부터 간질내 세포의 침윤이 경미하게 관찰되었다. 10 µg/g투여군에서는 8주째에 신세뇨관상피의 탈락, 심근세포의 변성 등의 조직변화를 나타내었으나 그 정도는 고용량 투여군에 비해 경미하였다.

참고 문헌

1. Anetor JI, Adeniyi FA. Decreased immune status in Nigerian workers occupationally exposed to lead. *Afr J Med Sci* 1998; 27(3-4): 169-172.
2. Araujo UC, Pivetta FR, Moreira JC. Occupational lead exposure assessment: a proposal for a strategy to monitor prevention of clinical and subclinical effects. *Cad Saude Publica* 1999; 15(1). 123-131.
3. Browne DR, Husni A, Risk MJ. Airborne lead and particulate levels in Semarang, Indonesia and potential health impacts. *Sci Total Environ* 1999; 227(2-3): 145-154.
4. Cannon HL, Bowles JM. Contamination of vegetation by tetraethyl lead. *Science* 1962; 137: 765-766.
5. Dinus DA, Brinsfield TH, Williams EE. Effect of subclinical lead intake on calves. *J Anim Sci* 1973; 37(1): 169-173.

6. Etre LA, Reynolds SJ, Burmeister LF, Whitten PS, Gergely R. An evaluation of the effectiveness of lead paint hazard reduction when conducted by homeowners and landlords. *Appl Occup Environ Hyg* 1999; 14(8): 522-529.
7. Goldgerg A. Drinking water as a source of lead pollution. *Environ Health Perspect Exp* 1974; 7: 103-105.
8. Gruden N, Stantic M. Transfer of lead through the rat's intestinal wall. *Sci Total Environ* 1975; 3: 288-292.
9. Hamir AN, Lehmann B, Raju N, Ebel JG, Manzell KL, Rupprecht CE. Experimental lead toxicosis of raccoons (*Procyon lotor*). *J Comp Pathol* 1999; 120(2): 147-154.
10. Hamir AN, Sullivan ND, Handson PD. Acid fast inclusions in tissues of dogs dosed with lead. *J Comp Pathol* 1983; 93(2): 307-317.
11. Hammond PB, Aronson AL. Lead poisoning in cattle and horses in the vicinity of a smelter. *Ann New York Acad Sci* 1964; 111: 595-611.
12. Hankin L, Heichel GH, Botsford RA. Lead in pet foods and processed organ meats. *J Am Med Assoc* 1975; 231: 484-485.
13. Hernandez-Avila M, Romieu I, Rios C, Rivero A, Palazuelos E. Lead glazed ceramics as major determinants of blood lead level in Mexican women. *Environ Health Perspect* 1991; 94: 117-120.
14. Hilliard A, Ramesh A, Zawia NH. Correlation between lead-induced changes in cerebral ornithine decarboxylase and protein kinase C activities during development and in cultured PC 12 cells. *Int J Dev Neurosci* 1999; 17(8): 777-785.
15. Jones TC, Hunt RD. *Veterinary pathology*, 5th ed. Philadelphia: Lea and Febiger. 1983: 1000-1006.
16. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. *Pathology of domestic animals*. Volume 1, 3rd ed. New York: Academic Press. 1985: 272-273.
17. Kaul B, Sandhu RS, Depratt C, Reyes F. Follow-up screening of lead-poisoned children near an auto battery recycling plant, Haina, Dominican Republic. *Environ Health Perspect* 1999; 107(11): 917-920.
18. Kokori H, Giannakopoulou CH, Hatzidaki E, Athanaselis S, Tsatsakis A, Sbyrakis S. An unusual case of lead poisoning in an infant: nursing-associated plumbism. *J Lab Clin Med* 1999; 134(5): 522-525.
19. Koller LD. Public health risks of environmental contaminants: Heavy metals and industrial chemicals. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 176: 525-529.
20. Lansdown R, Yule W. *Lead toxicity: History and environmental impact*. Baltimore: Johns Hopkins University Press. 1986. 1-286.
21. Larterra J, Bressler JP, Indurri RR, Belloni-Olivi L, Goldstein GW. Inhibition of astroglia-induced endothelial differentiation by inorganic lead: a role for protein kinase C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10748-10752.
22. Lewis LA, Schweitzer SH. Lead poisoning in a northern bobwhite in Georgia. *J Wildl Dis* 2000; 36(1): 180-183.
23. Luna LG. *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*, 3rd ed. New York: McGraw-hill Book Co. 1969: 220.
24. Lutz PM, Wilson TJ, Ireland J, Jones AL, Gorman JS, Gale NL, Johnson JC, Hewett JE. Elevated immunoglobulin E (IgE) levels in children with exposure to environmental lead. *Toxicology* 1999; 134(1): 63-78.
25. Morgan RV, Moore FM, Pearce LK, Rossi T. Clinical and laboratory findings in small companion animals with lead poisoning: 347 cases(1977-1986). *J Am Vet Med Assoc* 1991; 199(1): 93-97.
26. P'an AY, Kennedy C. Lead distribution in rats repeatedly treated with low doses of lead acetate. *Environ Res* 1989; 48(2): 238-247.
27. Papaioannou N, Vlemmas I, Balaskas N, Tsangaris T. Histopathological lesions in lead intoxicated dogs. *Vet Hum Toxicol* 1998; 40(4): 203-207.
28. Petkov K, Madzirov Z, Ilkovski R. Heavy metals as contaminants of the life environment(lead, cadmium). *Veterinarski Glasnik* 1979; 33(7): 511-518.
29. Platt SR, Helmick KE, Graham J, Bennett RA, Phillips L, Chrisman CL, Ginn PE. Peripheral neuropathy in a turkey vulture with lead toxicosis. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214(8): 1218-1220.
30. Rader JJ, Peeler JT, Mahaffey KR. Comparative toxicity and tissue distribution of lead acetate in weanling and adult rats. *Environ Health Perspect* 1981; 42: 187-195.
31. Radostits OM, Blood DC, Gay CC. *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*, 8th ed. London. Bailliere Tindall. 1994. 1469-1480.
32. Sargent JD, Dalton M, Demidenko E, Simon P, Klem RZ. The association between state housing policy and lead poisoning in children. *Am J Public Health* 1999; 89(11): 1690-1695.
33. Schraishuhn J, Kaufer-Weiss I, Weiss E. Light and electron microscopic studies of calf kidneys after exposure to subtoxic lead levels. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1992; 105(9): 290-293.
34. Schwarz K. In Hoekstra WG, et al., ed "Trace element metabolism in animals-2" Maryland: Univ Park Press, Baltimore. 1974: 355.
35. Sharma RP, Street SC. Public health aspects of toxic heavy metals in animal feeds. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 177: 149-153.

36. Shelton KR, Egle PM. The proteins of lead-induced intranuclear inclusion bodies. *J Biol Chem* 1982; 257(19): 11802-11807.
37. Soong WT, Chao KY, Jang CS, Wang JD. Long-term effect of increased lead absorption on intelligence of children. *Arch Environ Health* 1999; 54(4): 297-301.
38. Tang HW, Huel G, Campagna D, Hellier G, Boissinot C, Blot P. Neurodevelopmental evaluation of 9-month-old infants exposed to low levels of lead in utero: involvement of monoamine neurotransmitters. *J Appl Toxicol* 1999; 19(3): 167-172.
39. Vicente-Ortega V, Martinez-Garcia AF, Cremades-Campos A, Rodriguez-Vicente J, Calderon-Rubiales F, Martinez-Diaz F. Ultrastructural investigation of lead-induced intranuclear inclusion bodies in mice. *Ultrastruct Pathol* 1996; 20(3): 263-273.
40. Vyskocil A, Pancl J, Tsul M, Ettlerova E, Semecky V, Kasparova L, Lauwerys R, Bernard A. Dose-related proximal tubular dysfunction in male rat chronically exposed to lead. *J Appl Toxicol* 1989; 9(6): 395-399.
41. Waldron HA. The anemia of lead poisoning. A review. *Brit J Industr Med* 1966; 23: 83-100.
42. Wunderlin E, Schefer U, Forss AM. Acute lead poisoning in calves: clinical, pathological and toxicological findings. *Schweiz Arch Tierheilk* 1992; 134(10): 459-466.
43. 권오덕, 이주목, 이승욱 등. Rat에 있어서 실험적 납중독이 체조직내 납 및 무기질함량에 미치는 영향. *대한수의학회지* 1996; 36(3): 709-718
44. 권오덕, 이현범. 산양의 실험적 납중독에 관한 임상 병리학적 관찰. II. 조직내 무기질함량 분석 및 병리해부학적 관찰. *대한수의학회지* 1993; 33(3): 493-505.