

만성 카드뮴 처치 쥐에서 골조직 장애에 미치는 녹차 Catechin의 영향

최정화 · 김용진* · 이순재†
대구가톨릭대학교 식품영양학과
*영남대학교 의과대학 해부학교실

Effects of Green Tea Catechin on Bone Disorder in Long-Term Cadmium Treated Rats

Jeong-Hwa Choi, Yong-Jin Kim* and Soon-Jae Rhee†

Dept. Food Science and Nutrition, Daegu Catholic University, Gyungsan 712-702, Korea

*Dept. of Pathology, Medicine college, Yeungnam University, Daegu 705-717, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of green tea catechin on change of bone tissue in long-term cadmium treated rats. Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 g were randomly assigned to one normal group and three cadmium treated groups. Cadmium groups were classified to catechin free diet group (Cd-0C group), 0.25% catechin diet group (Cd-0.25C group) and 0.5% catechin diet group (Cd-0.5C group) according to the levels of catechin supplement. Animals were raised for 20 weeks. Cadmium were supplied as drinking water of 50 ppm Cd²⁺. Effects of catechin were analyzed on changes of bony tissue in long-term cadmium treated rats by determining the accumulated cadmium in bone and bone mineral density and microphotographs of bony tissue. The cadmium accumulation of tibia and femur were higher in Cd-treated groups than in normal group, but they was lowered by catechin supplementation. The bone mineral density (BMD) of tibia and femur in Cd-0C group was significantly lower than in normal group, but it of catechin supplementation group was similar to normal group. Microphological changes were appeared under a light microscope and an electro microscope reveal no structural changes in bony spicules, marrow cell distribution and cellular morphology in all groups. The bone weight and length tend to decrease in Cd-0C groups. Catechin supplementation in long-term cadmium treated rats depressed the cadmium accumulation in bony tissue that led to improve the bone mineral density in tibia and femur.

Key words: cadmium, catechin, bone, BMD, microphological changes

서론

카드뮴은 1817년 Strohmeyer에 의해 처음으로 분리되었으며 인체에 미치는 영향은 1932년 Prodan이 처음으로 기술하였다(1). 우리 나라의 전국적인 카드뮴 섭취량에 대한 보고는 아직 없으나 1980~1990년 사이의 지역별 카드뮴 섭취 실태 조사에 의하면 일인당 평균 섭취량이 55~84 µg/day로 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives(2)에서 허용한 카드뮴에 대한 식이 섭취 잠정 기준인 57~71 µg/day를 상회하고 있어 경계해야 할 단계에 진입했다고 볼 수 있다.

카드뮴의 인체중독 현상으로는 간, 위장, 중추신경의 장애 등의 급성중독 현상과 신장기능의 장애, 칼슘 흡수 장애와 골다공증 등의 골장애를 일으키는 이따이 이따이 질환과 같은 만성중독증이 잘 알려져 있다(3,5).

중금속의 임상적 중독현상이나 해독에 영향을 미치는 주

요 요소는 동물체내의 영양상태나 항산화물질에 의해 현저한 차이가 있다는 여러 연구보고가 있다(6-9). 최근 카드뮴의 중독현상을 완화시키기 위한 연구로는 Yin 등(6)을 비롯한 여러 영양학적 측면의 연구에서 단백질, 섬유소, 칼슘, 철분, 아연, 구리, 셀레늄, 비타민 C 및 비타민 E 등이 그 독성을 감소시키는데 영향을 미친다고 보고하였으며(7-11), 카드뮴의 체외로의 배설에 관한 연구도 여러 분야에서 활발히 진행되고 있다(12,13). 녹차는 flavanols, flavanon, flavonoid, phenolic acid를 포함한 폴리페놀류를 함유하고 있다. 이러한 물질들은 건조 중량의 약 12~15% 함유되고 있다. 대부분 녹차의 폴리페놀류는 catechin으로 알려진 flavanol류이다. 녹차의 catechin으로는 (-)-epigallo-catechin 3-O-gallate(EGCg), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epicatechin 3-O-gallate(ECG), (-)-epicatechin(EC)가 존재하며 (+)-gallocatechin(GC), (+)-catechin(C) 등이 소량 존재한다. 이러한 catechin

†Corresponding author. E-mail: sjrhee@cataegu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3523, Fax: 82-53-850-3504

의 지금까지 알려진 생리활성으로는 녹차를 비롯한 다류의 다엽중에 존재하는 폴리페놀성 화합물인 catechin은 혈압저하 및 혈소판 응집감소 및 혈중 콜레스테롤 저하(14), 항균작용(15), 충치 억제 작용(16), 항암작용(17), 중추 신경계 활성화(18), 항돌연변이(19) 작용등이 알려져 있으며 특히, 중금속류 제거작용(20-22)이 보고되고 있다.

중금속 해독과 관련된 연구로 Choi와 Rhee(21)의 연구에서 catechin의 공급이 변중으로 카드뮴 배설량을 증가시키고 카드뮴 해독기구인 간장과 신장에서의 metallothionein (MT) 합성을 촉진시켜 체내 각조직의 카드뮴 축적을 감소됨이 보고된바 있다(21). 또한 녹차 catechin은 카드뮴 중독으로 인한 신기능 장애를 개선시키고 혈압을 정상화시키는 작용이 있음이 규명되었다(22). 이들 연구에서 녹차가 카드뮴과 같은 중금속의 흡착능력 및 카드뮴으로 인한 신장조직의 손상을 완화시키는 것으로 보아 catechin이 착물형성이나 혹은 화학흡착에 의해 침전을 일으켜 중금속을 제거하는 것으로 본다. 즉, catechin은 장내에서 중금속과 결합하여 불용성 금속염을 형성하여 체내 흡수 단계에서 방어하여 카드뮴을 그대로 배출시키므로서 중금속의 독성으로부터 보호할 수 있다고 본다. 또 한편으로 일부 체내에 흡수된 카드뮴을 무독상태인 MT으로 합성을 촉진하므로서 해독에 기여하였다. 즉 카드뮴이 골장애를 초래하고 catechin이 카드뮴 배설을 촉진시켜 조직내에 카드뮴 축적을 방지한다는 보고를 고려해 볼 때 catechin이 골조직에 카드뮴 축적을 감소시킬것으로 생각된다. 이를 확인코저 catechin과 카드뮴을 병행처리한 경우에 골조직중 카드뮴 함량을 측정하는 한편 골조직의 형태학적 변화를 관찰코저 하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육

실험동물은 무게가 100 g 정도되는 Sprague-Dawley 중수컷을 구입하여 실험 시작하기 전 7일간 일정한 환경(22±1°C, 50±10%)에서 적응시킨 후 Table 1과 같이 식수로 증류수를 공급한 정상군(Normal group)과 카드뮴 식수 (50ppm)를 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.

식수와 식이는 자유로이 섭취케하며 각각 10주 및 20주간 사육하였다. 또 10주와 20주에는 각각 실험종료 5일전에 700 ppm의 카드뮴을 1일 1 mL씩 투여하였으며 카드뮴 비공급군에는 동량의 증류수를 경구투여 하였다.

녹차로부터 추출한 식이용 catechin은 Matsuzaki와 Hata (23)의 방법으로 crude catechin 분말을 조제하여 사용하였다. 순도는 68.4%였으며 종류별로 비교하였을 때 EGCg(38.56±0.06)함량이 가장 높았고 ECG(20.76±0.06), EGC(4.56±

Table 1. Classification of experimental groups

Group ¹⁾	Catechin	Cadmium ²⁾
	(% in diet)	(50 ppm Cd in drinking water)
Normal	0	-
Cd-0C	0	+
Cd-0.25C	0.25	+
Cd-0.5C	0.5	+

¹⁾Normal: normal diet group.
Cd-0C: group fed Cd containing drinking water.
Cd-0.25C: group fed Cd containing drinking water and 0.25% catechin supplemented diet.
Cd-0.5C: group fed Cd containing drinking water and 0.5% catechin supplemented diet.

²⁾Cadmium groups drinking tap water containing 50 ppm Cd (CdCl₂ · ½ H₂O) in drinking water, respectively.

0.02), EC(4.52±0.01)순으로 나왔다.

뼈조직 중 카드뮴 함량 측정

대퇴골과 경골의 카드뮴 함량은 시료의 일정량을 취하여 550°C의 muffle furnace에서 24시간 동안 건식분해시켜 농질산으로 녹인후 1 N HCl로 희석하여 파장 228.8 nm에서 atomic absorption spectrophotometer (AAs, Cambridge, UK)로 측정하였다(24).

골밀도, 골무기질 함량 및 총 골칼슘 측정

실험 2주째 되는 날 오른쪽 대퇴골 및 경골의 골밀도(bone mineral density, 이하 BMD)를 small animal total body option을 가지고 있는 dual energy x-ray absorptiometry(이하 DEXA : Lunar DPX-L, USA)를 이용하여 골밀도를 측정하였다.

대퇴골의 형태학적 변화 관찰

광학현미경적 관찰 : 대퇴골 조직의 광학 현미경적 관찰을 위해 각 군의 실험동물을 희생시킨 후 오른쪽 대퇴부의 골편을 절취하여 5% 질산(HNO₃) 용액에서 2~3일간 탈회시킨후 ethanol 단계별 농도로 탈수하고 탈알콜시킨 후 파라핀에 포매하였다. 포매된 조직은 microtome으로 4~5 μm로 사정하고 Hematoxylin-Eosin염색을 한 후 광학현미경(Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

전자현미경적 관찰 : 절취한 대퇴골은 1 cm 정도로 잘라서 2.5% glutaraldehyde 용액에 2시간 고정된 후 다시 단면을 만들어서 2시간 고정하였다.

탈회는 EDTA(ethylene diamine tetra acetic acid) 탈회법을 이용하여 조직을 교반기로 교반하면서 실온에서 탈회하였다. 탈회액은 격일로 교환하고 침이 통과할 정도의 경도까지 탈회하였다. 종료후에는 0.25 M sucrose를 포함한 완충액에 넣어 하룻밤을 냉장실에서 세척하였다. 세척후 1% OsO₄ 용액에 후고정하였으며 다른 조직과 같은 방법으로 탈수하였다. Propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법(25)에 의한 epon 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 방치

하여 열증합을 시켰다. 포매된 조직을 1 μm 두께로 박절하여 toluidine blue염색을 하였으며 관찰 부위를 결정한 다음 초박절은 sorval MT 6000형 초박절기에 Dupont 다이아몬드 칼로 회백색(40~60 nm)의 간섭색을 나타내는 초박절편을 얻었다. Grid에 부착하여 Watson(26) 및 Reynolds 방법(27)에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H-600 투과전자현미경(Japan)으로 관찰하였다

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.

결 과

경골 및 대퇴골 조직에서의 카드뮴 함량

경골 및 대퇴골에서의 카드뮴 함량변화는 Table 2와 같다. 경골에서의 카드뮴 함량은 10주에서는 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비하여 catechin 공급군에서 감소하였으며 catechin공급수준에 따른 차이는 없었다. 20주에는 Cd-0C군에 비하여 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군이 34%, 31%씩 각각 유의적으로 감소하였다(p<0.05).

대퇴골에서의 카드뮴 함량은 10주에서는 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비하여 catechin 공급군이 약 44% 씩 감소하였으며 catechin 공급수준에 따른 군간의 차이는 없었다. 20주에는 Cd-0C군(3.94±0.11)에 비하여 Cd-0.25C군(2.64±0.08)과 Cd-0.5C군(2.39±0.04)이 33%, 39%씩 각각 유의적으로 감소하였다(p<0.05).

뼈조직의 무게 및 길이

경골과 대퇴골 두 뼈조직의 무게변화를 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 경골과 대퇴골 모두 10주, 20주에서 정상군에 비해 카드뮴 투여군 모두가 다소 감소되었으며 실험군간의 유의성은 없었다.

뼈조직의 길이를 관찰한 결과(Table 4) 대퇴골, 경골 모두

Table 2. Effects of green tea catechin on tibia and femur cadmium concentrations in long-term cadmium treated rats

Group	Tibia		Femur	
	10 wks	20 wks	10 wks	20 wks
	(μg/g wet wt)			
Normal	0.10±0.01 ^{1)a2)}	0.15±0.01 ^a	0.10±0.01 ^a	0.14±0.01 ^a
Cd-0C	2.66±0.19 ^b	3.12±0.39 ^b	3.28±0.66 ^b	3.94±0.11 ^b
Cd-0.25C	1.72±0.14 ^c	2.05±0.43 ^c	1.82±0.05 ^c	2.64±0.08 ^c
Cd-0.5C	1.82±0.02 ^c	2.15±0.06 ^c	1.83±0.09 ^c	2.39±0.04 ^d

¹⁾All values are mean±SE (n=10)

²⁾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.

Table 3. Effects of green tea catechin on bone weight changes in long-term cadmium treated rats (g)

Group	Femur		Tibia	
	10 wks	20 wks	10 wks	20 wks
Normal	0.94±0.02 ^{1)NS}	1.17±0.07 ^{NS}	0.861±0.178 ^{NS}	1.070±0.061 ^{NS}
Cd-0C	0.86±0.04	0.94±0.11	0.783±0.020	0.923±0.071
Cd-0.25C	0.95±0.05	1.09±0.03	0.832±0.030	0.956±0.037
Cd-0.5C	0.95±0.05	1.03±0.06	0.840±0.030	0.938±0.063

¹⁾All values are mean±SE (n=10)

NS: Not significant.

The experimental conditions are the same as Table 1.

Table 4. Effects of green tea catechin on bone length changes in long-term cadmium treated rats (cm)

Group	Femur		Tibia	
	10 wks	20 wks	10 wks	20 wks
Normal	3.55±0.25 ^{1)NS}	4.25±0.19 ^{NS}	4.38±0.03 ^{NS}	4.43±0.14 ^{NS}
Cd-0C	3.27±0.14	3.97±0.15	4.22±0.10	4.37±0.23
Cd-0.25C	3.60±0.13	3.86±0.18	4.35±0.12	4.49±0.11
Cd-0.5C	3.50±0.14	3.90±0.06	4.32±0.14	4.45±0.12

¹⁾All values are mean±SE (n=10)

NS: Not significant.

The experimental conditions are the same as Table 1.

에서 10주, 20주 모두 카드뮴 투여군에서 감소되었으나 catechin을 투여한 군에서는 길이 감소가 다소 완화되었다. Cd-0C군에서 정상군에 비해 유의성은 없었으나 다소 감소하였다.

경골 및 대퇴골의 골밀도 변화

경골 골밀도 : 경골에서의 골밀도를 관찰한 결과(Fig. 1) 골밀도는 정상군(0.271±0.004)에 비하여 Cd-0C군(0.242±0.004)은 11%의 유의적으로 낮았으나 catechin공급군 (Cd-0.25C: 0.256±0.005, Cd-0.5C: 0.267±0.003)은 정상군 수준의 골밀도를 관찰하였다.

대퇴골 골밀도 : 대퇴골의 골밀도를 측정된 결과(Fig. 2) 골밀도는 정상군(0.357±0.007)에 비해 Cd-0C군(0.308±0.007)은 14% 낮았으나 Cd-0.25C군(0.344±0.008)과 Cd-0.5C

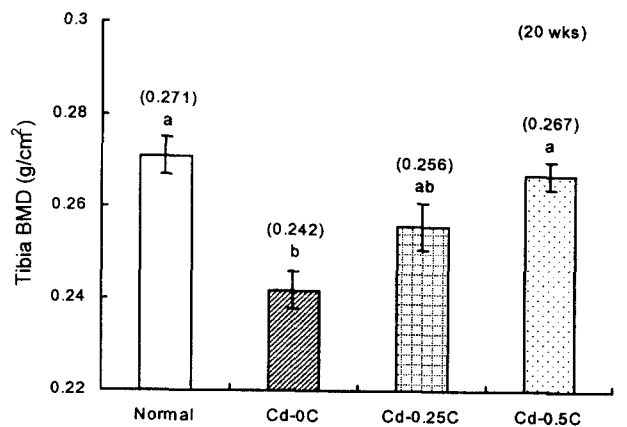


Fig. 1. Effects of green tea catechin on bone mineral density (BMD) of tibia in long-term cadmium treated rats. The experimental conditions are the same as Table 1.

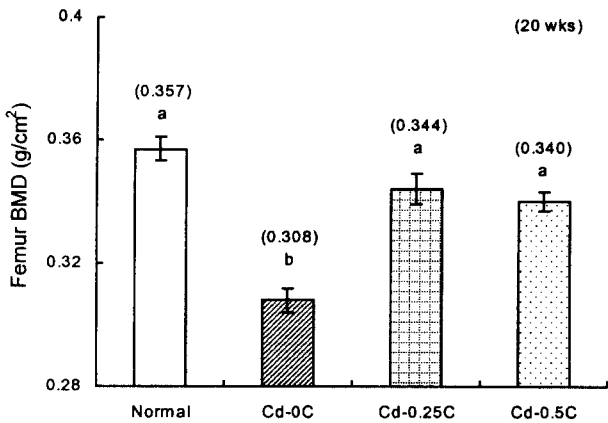


Fig. 2. Effects of green tea catechin on bone mineral density (BMD) of femur in long-term cadmium treated rats.
The experimental conditions are the same as Table 1.

군(0.341 ± 0.008)은 Cd-0C군에 비해 각각 12%, 11%씩 높았다.

대퇴골의 광학 및 전자현미경적 관찰

대퇴골의 정상군은 조직학적 단면에서 밝은 치밀뼈로 되어있는 피질과 뼈잔기둥(trabeculae)이 서로 얽혀서 그물모양을 이루고 있는 수질부위로 구분되어져 있다. 피질은 비교적 얇았으며 층판구조로 되어있고 층판 안에는 뼈세포가 들어있는 작은 공간인 뼈세포방이 층판에 따라 배열되어 있다. 수질부의 뼈잔기둥 및 뼈침(bony spicule)들의 가장자리에는 뼈모세포(osteoblast)들이 한 층으로 나열되어 있으며 가끔씩 골과세포(ostoblast)들도 한 두개씩 보였다. 나머지 공간들은 골수세포와 지방세포들이 거의 같은 양으로 배워져 있다. 골수에는 혈구성 및 골수성의 모세포들이 약 1:3 내지는 1:4정도로 분포되어 있었으며 가끔 혈소판의 모세포인 거대핵세포(megakaryocyte)도 관찰되었다. 이들 모세포들이 외에도 적혈구 및 다양한 숫자의 과립구 및 림프구도 관찰되었다(Fig. 3A)

이러한 정상소견은 카드뮴 투여군에서도 잘 유지되어 있었다. 즉 피질의 치밀뼈가 얇아지거나 두꺼워진 소견은 없었고 수질부의 뼈잔기둥도 숫자나 배열에 이상이 없었다. 골세포 및 골모세포 등도 형태학적 이상이 없었다. 골수 세포의 분포상의 변화도 없었으며 세포형태의 이상소견도 없었다(Fig. 3B, C, D)

전자현미경 소견 상 피질은 골기질이 규칙적인 층계를 이루고 있으며 중간 중간에 뼈세포방이 있고 안에는 뼈세포가 들어있다. 골수세포들은 세포질에 다양한 형태의 과립이 관찰되었다. 핵은 성숙정도에 따라 단핵인 경우와 분엽의 경우 등으로 나타났다(Fig. 4A)

이들 정상소견은 카드뮴 투여군에서도 잘 유지되어 있었다. 즉 피질의 골기질의 분포와 양에서도 이상 소견이 없었고 골세포 및 골모세포 등도 형태학적 이상이 없었다. 골수 세포의 핵과 과립에도 이상소견이 없었다(Fig. 4B, C, D)

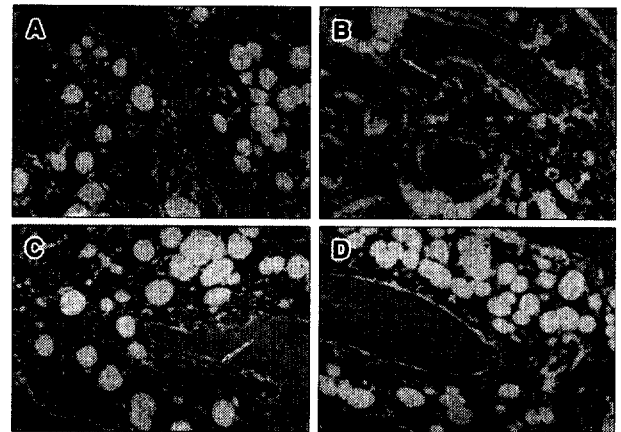


Fig. 3. Light microphotographs of bony tissue in long term cadmium treated rats for 20 weeks.

A) Normal group. Bony spicule (arrowhead) is laminated bone with lacunae (arrow) for osteocytes. Marrow space is filled with equal proportion of marrow cell and fat cells. B) Cd-0C group fed catechin free diet, cadmium treatment. C) Cd-0.25C group fed catechin supplementation (2.5 g/kg diet), cadmium treatment. D) Cd-0.5C group fed catechin supplementation (5 g/kg diet), cadmium treatment. Light microscopically, there are no structural changes in bony spicules, marrow cell distribution and cellular morphology.

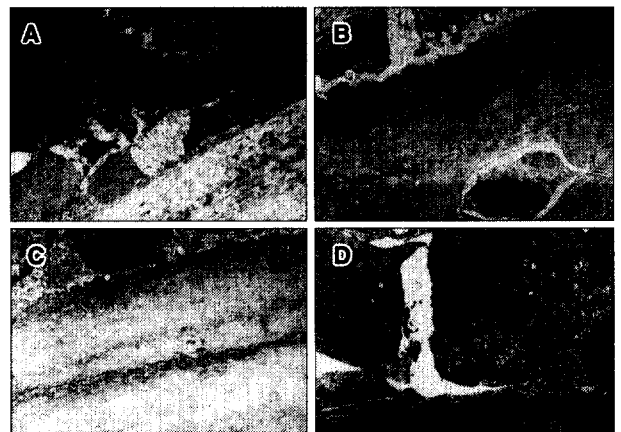


Fig. 4. Electron microphotographs of bony tissue in long-term cadmium treated rats for 20 weeks.

A) Normal group. Bony matrix (arrows) is laminated with thick collagen bundles. Underlying marrow space is filled with marrow cells. B) Cd-0C group fed catechin free diet, cadmium treatment. In the cortical bone, there is osteocyte in the lacuna. C) Cd-0.25C group fed catechin supplementation (2.5 g/kg diet), cadmium treatment. Laminated bony matrix is well preserved. D) Cd-0.5C group fed catechin supplementation (5 g/kg diet), cadmium treatment. Granulocytes show round single nucleus or lobulated form. In the cytoplasm, various number of granules are noted.

고 찰

본 연구에서는 녹차 catechin이 만성카드뮴 중독에 따른 골조직 장애와 그에 따른 조직학적 손상을 완화시킬 수 있는지를 관찰하였다.

경골에서의 카드뮴 함량은 10주에서는 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비하여 catechin 공급군에서 감소하였으며

catechin공급수준에 따른 차이는 없었다. 20주에는 Cd-0C군에 비하여 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군이 각각 유의적으로 감소하였다.

대퇴골에서의 카드뮴 함량은 10주에서는 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비하여 catechin 공급군이 유의적으로 감소하였으며 catechin 공급수준에 따른 군간의 차이는 없었다. 20주에는 Cd-0C군에 비하여 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군이 각각 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과는 전보(21)에서 카드뮴의 주된 배설경로인 변을 통한 배설량은 catechin 급여군에서 유의적으로 증가하였는데 이와 같이 catechin이 카드뮴과 불용성 착화합물을 형성하여 카드뮴의 장내흡수를 저해하고 대변으로의 배설량을 증가시킴으로서 뼈조직중의 카드뮴 함량이 감소된것으로 사료된다.

이러한 경향은 flavonoid의 일종인 감귤과피로부터 분리한 hesperidin을 섭취하였을 때 변을 통해 카드뮴 배설을 증가시켜 카드뮴 독성을 완화시켰다는 결과와도 일치하는 것이다(28). Flavonoid는 hydroxyl 치환기의 위치와 고리계(ring system)의 전자적 성질에 따라 전이금속에 대한 좋은 배위자(ligand)가 될 수 있어 구리, 아연, 철분이온동에 강한 친화력을 갖고 있다(29). 이것으로 보아 녹차 중의 polyphenol성 성분중의 하나인 여러 종류의 catechin이 착물형성 혹은 화학 흡착에 의해 침전을 일으켜 중금속을 제거하는 것으로 생각된다.

경골 및 대퇴골의 길이와 무게는 카드뮴 공급시 다소 감소되었는데 실험군간의 유의적인 차이는 없었다.

경골과 대퇴골에서 골밀도를 관찰한 결과 경골에서 골밀도는 정상군에 비하여 Cd-0C군은 유의적으로 낮았으나 catechin공급군은 정상군 수준의 골밀도를 관찰하였다. 대퇴골의 골밀도는 정상군에 비해 Cd-0C군은 낮았으나 Cd-0.5C군과 Cd-1.0C군은 Cd-0C군에 비해 유의적으로 높았다.

장기간의 카드뮴 폭로시 신세뇨관 기능 장애로 인하여 칼슘의 재흡수의 감소와 칼슘배설의 증가로 골무기질 함량을 감소시킨다는 결과와 일치한다(30). Jarup 등(31)은 5년이상 카드뮴에 폭로되기 쉬운 작업환경에서 일해온 사람들을 대상으로 척추와 골반등에서 본 연구에서 사용한 기기와 동일한 DXA기기로 골밀도를 측정한 결과 각 부위의 골밀도가 모두 감소하였다고 보고하였다. Chalkley 등(32)은 장기간 카드뮴에 폭로된 사람들에서 vitamin D₃의 대사를 관찰한 결과 1,25(OH)₂VitD₃의 농도가 감소됨을 관찰하였는데 이로써 카드뮴으로 인한 vitamin D₃ 대사장애는 골다공증이나 골연화증을 유발할 수 있다고 보고하였다. 또 이를 뒷받침해줄 근거로는 본인의 연구(33)에서의 deoxypyridinoline, crosslinks value와 같은 골흡수지표나 osteocalcin과 같은 골형성지표 관찰에서 catechin 비투여 카드뮴 중독군에서 골교체율이 정상군이나 catechin 공급군보다 높은 것이 관찰됨으로서 골무기질 함량 감소가 있음이 간접적으로 시사하였다. 따라서 카드뮴 중독시 뼈조직에 축적된 카드뮴 함량이 증가되었을

때 칼슘함량을 비롯한 골무기질함량이 감소된 것은 카드뮴 투여가 골교체율을 빠르게 유도하지만 골형성 작용에 비해 골흡수작용이 상대적으로 강하게 일어났기 때문인 것으로 추측된다.

골격은 20%의 해면골(trabecular bone)과 80%의 치밀골(compact cortical bone)로 구성되어 있다. 해면골은 표면적 대 부피의 비(surface to volume ratio)가 크고 대사율(metabolic turnover)이 빠르며 또한 골격 손실이 빨리 일어난다. 본 연구에서 대퇴골 조직을 광학현미경과 전자현미경으로 관찰한 결과 정상군에서 골조직은 골세포들이 균질하게 배열되어 있고 골수 세포들이 충실히 성숙된 상태를 유지하고 있었다. 골기질 또한 잘 배열되어 있었다. 이러한 정상소견은 카드뮴 투여군에서도 잘 유지되어 있었고 손상소견이 관찰되지 않았다. 따라서 만성카드뮴 중독시에 골밀도의 변화는 있었지만 골조직의 조직학적 변화는 크게 유도되지는 않았던 것으로 생각된다.

이와 같이 카드뮴 중독시 경골과 대퇴골에 카드뮴이 축적되었고 골밀도가 감소되었으나 녹차 catechin의 공급으로 카드뮴 축적이 감소되었고 골밀도도 정상화 시켰다. 그러나 본 연구기간으로는 뼈조직의 조직학적 변화를 관찰할 수는 없었다.

요 약

만성 카드뮴 중독 흰쥐에서의 골조직의 변화와 이에 대한 녹차 catechin의 해독기전을 관찰하고자 하였다. 실험동물은 100 g 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(catechin 2.5 g/kg of diet), Cd-0.5C군(catechin 5 g/kg of diet)으로 나누어 10 및 20주간씩 자유섭식시켰다. 카드뮴은 50 ppm Cd²⁺ 농도의 식수로 자유로이 공급하였다. 실험동물은 자기간별로 사육후 뼈조직의 형태학적 변화를 관찰하고 20주째 조직학적 변화 및 골밀도를 관찰하여 만성카드뮴 중독으로 인한 골조직 장애에 미치는 녹차 catechin의 효과를 관찰하였다. 경골과 대퇴골에서의 카드뮴 함량은 10주에서는 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비하여 catechin 공급군에서 감소하였으며 catechin공급수준에 따른 차이는 없었다. 20주에는 Cd-0C군에 비하여 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군이 각각 유의적으로 감소하였다. 경골과 대퇴골 두 뼈조직의 무게변화를 관찰한 결과는 모두 10주, 20주에서 정상군에 비해 카드뮴 투여군 모두가 다소 감소되었으며 실험군간의 유의성은 없었다. 뼈조직의 길이를 관찰한 결과 대퇴골, 경골 모두에서 10주, 20주 모두 카드뮴 투여군에서 감소되었으나 catechin을 투여한 군에서는 길이 감소가 다소 완화되었다. Cd-0C군에서 정상군에 비해 유의성은 없었으나 다소 감소하였다. 경골에서의 골밀도

를 관찰한 결과 골밀도는 정상군에 비하여 Cd-0C군은 유의적으로 낮았으나 catechin 공급군은 정상군 수준의 골밀도를 관찰하였다. 대퇴골의 골밀도를 측정된 결과 정상군에 비해 Cd-0C군은 낮았으나 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군은 Cd-0C군에 비해 유의적으로 높았다. 광학현미경으로 관찰한 결과 정상군에서 보여지는 소견은 카드뮴 투여군에서도 잘 유지되어 있었다. 전자현미경 관찰한 결과 정상군에서 보여지는 소견은 카드뮴 투여군에서도 잘 유지되어 있었다. 결론적으로 녹차 catechin은 만성 카드뮴 중독 흰쥐에서 경골과 대퇴골에서의 카드뮴 축적을 감소시켰으며 골밀도를 정상화시킴으로서 골조직의 변화를 완화시킬 수 있었다.

감사의 글

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

문헌

- Prodan, L.J. : Cadmium poisoning I. The history of cadmium poisoning and uses of cadmium. *J. Ind. Hyg.*, **14**, 132-155 (1932)
- Joint FAO/WHO : Expert committee on Food Additives. *WHO Tech Rep Ser* 505, p.20-24 (1972)
- Kazantzis, G. : Renal tubular dysfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environ. Health Perspect*, **28**, 155-159 (1979)
- 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**, 153-161 (1984)
- Schroeder, H.A., Nason, A.P., Prior, R.E., Reed, J.B. and Haessler, W.T. : Influence of cadmium in renal ischemic hypertension in rats. *Am. J. Physiol.*, **214**, 469-474 (1968)
- Yin, S.S., Yu, H., Shiro, N., Hitomi, T. and Kenji, Y. : Effect of dietary zinc and cadmium on tissue selenium concentration and glutathione peroxidase activity in rats fed DL-selenomethionine and sodium selenite. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **37**, 29-37 (1991)
- Hamilton, D.L. and Valverg, L.S. : Relationship between Cd and Fe absorption. *Am. J. Physiol.*, **227**, 1033-1037 (1974)
- Hill, C.H., Martrone, G., Daoyne, W.L. and Barber, C.W. : *In vivo* interactions of cadmium with copper, zinc and iron. *J. Nutr.*, **80**, 227-235 (1963)
- Kwan, O.R. and Kim, M.K. : The effect of dietary protein and calcium levels on metallothionein and histopathological changes during cadmium intoxication in rats. *Korean J. Nutr.*, **25**, 360-378 (1992)
- Ando, M., Sayato, Y. and Osaw, T. : Studies on the disposition of calcium in bones of rats after continuous oral administration of cadmium. *Toxicol. Appl. Pharmacology*, **46**, 625-632 (1978)
- Kim, K.R., Kim, M.J. and Rhee, S.J. : Effect of vitamin E on arachidonic acid cascade in platelets and aorta of cadmium poisoned rats. *Nutr. Res.*, **21**, 657-665 (2001)
- Kim, H.J., Bae, K.H., Lee, H.J., Eun, J.B. and Kim, M.K. : Effect of hesperidin extracted from tangerine peel on Cd and lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J. Nutr.*, **32**, 137-149 (1999)
- Suzuki, Y. : Cadmium, copper and zinc distribution in blood of rats after long-term cadmium administration. *J. Toxicol. Environ. Health*, **7**, 251-262 (1981)
- Muramatsu, K., Fukuyo, M. and Hara, Y. : Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol fed rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **32**, 613-622 (1986)
- Sakanaka, S., Kim, M., Taniguchi, M. and Yamamoto, T. : Antibacterial substances in japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. *Argic. Biol. Chem.*, **53**, 2307-2311 (1989)
- Sakanaka, S., Shimura, N., Aizawa, M., Kim, M. and Yamamoto, T. : Preventive effect of green tea polyphenols against dental caries in conventional rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 592-594 (1992)
- Cheng, S.J. : The preliminary study of inhibitory effects of green tea antioxidant on mutation. *Acta Exp. Biol.*, **9**, 328-334 (1986)
- Hayashi, E., Hayashi, M. and Yamazoe, H. : Pharmacological action of tea extract on the central nervous system in mice. *Oyo Yakuri*, **40**, 351-356 (1990)
- Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki, S., Matsuzaki, T. and Hara, Y. : Detection and chemical identification of natural bioantimutagens. *Mutat. Res.*, **150**, 127-131 (1985)
- Lee, S.R., Lee, J.H. and Choi, S.I. : Effect of green tea beverage for the removal of heavy metal. Proceeding of the 2nd international symposium on green tea, p.77-87 (1993)
- Choi, J.H. and Rhee, S.J. : Effects of green tea catechin on cadmium accumulation in chronic cadmium poisoned rats. *Korean J. Nutr.*, **34**, 384-392 (2001)
- Choi, J.H., Park, K.Y., Song, D.K., Bae, J.H., Park, W.K., Kim, Y.J. and Rhee, S.J. : Effects of green tea catechin on renal dysfunction in chronic cadmium poisoned rats. *Korean J. Nutr.*, **33**, 725-732 (2000)
- Matsuzaki, T. and Hata, Y. : Antioxidative activity of tea leaf catechin. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **59**, 129-134 (1985)
- Zinterhofer, L.J., Jatlow, P.I. and Fappiano, A. : Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J. Lab. Clin. Med.*, **78**, 664-674 (1971)
- Luft, J.H. : Improvement in epoxy resin embedding method. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 409-414 (1961)
- Watson, M.L. : Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, **475-479** (1958)
- Reynolds, E.S. : The use of lead citrate at high PH as an electron of aue stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **7**, 208-212 (1963)
- Nordberg, G.F., Piscator, M. and Nordberg, M. : On the distribution of cadmium in blood. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **30**, 289-295 (1971)
- Isabelle, M., Gerard, L., Pascale, C., Odile, S., Nicole, P., Pierre, B., Pierre, C. and Josiane, C. : Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem. Pharmacol.*, **45**, 13-19 (1993)
- Kawamura, J., Yoshida, O., Nishino, K. and Itokawa, Y. : Disturbances in kidney functions and calcium and phosphate metabolism in cadmium-poisoned rats. *Nephron*, **20**, 101-110 (1978)
- Jarup, L., Alfven, T., Persson, B., Toss, G. and Elinder, C.G. : Cadmium may be a risk factor for osteoporosis. *Occup. Environ. Med.*, **55**, 435-439 (1998)

32. Chalkley, S.R., Richmond, J. and Barltrop, D. : Measurement of vitamin D₃ metabolites in smelter workers exposed to lead and cadmium. *Occup. Environ. Med.*, **55**, 446-452 (1998)
33. Choi, J.H. : Effects of green tea catechin on dysfunction of

bone metabolism and thrombosis in chronic cadmium-poisoned rats and its mechanism. *Ph.D. Dissertation*, Catholic University of Daegu (2000)

(2001년 9월 24일 접수)