

다이옥신-유도 독성에 대한 녹용 추출물의 방어효과

황석연 · 양진배¹ · 장철수² · 이영찬³ · 이형철^{4*}

충북대학교병원 임상병리과, 1:대전대학교 한의과대학, 2:김천대학 임상병리과, 3:원광대학교 한의과대학 병리학교실

Protective Effect of Cornu Cervi Parvum Extract on Toxicity Induced by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in Rat

Seock Yeon Hwang, Jin Bae Yang¹, Cheoul Soo Chang², Young Chan Lee³, Hyung Chul Lee^{3*}

Department of Clinical Pathology, Chungbuk National University Hospital, 1:College of Oriental Medicine, Taejon University, 2:Department of Clinical Pathology, Kimcheon Health Sciences College, 3:Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

The toxicity and bioaccumulation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and polychlorinated biphenyls (PCBs) continues to be a focus of research in human and various species. The main human exposure is via the dietary route. This study was carried out to investigate the protective effect of Cornu Cervi Parvum extract on clinical parameters and hepatotoxicity in Sprague-Dawley rat (SD rat) accutely exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). Male SD rats received single intraperitoneal (ip) injection of TCDD (40 μg/kg), and administered 10 or 20 mg/kg/day of the ethanol extract oral injection for 4 weeks from 1 week before TCDD treatment. The gain in body weight was less in group treated with TCDD than in CON group, while that of C/H+TCDD group (Cornu Cervi Parvum extract 20 mg/kg/day) increased. The decrease in spleen and testis weight caused by TCDD was prevented by Cornu Cervi Parvum extract 20 mg/kg/day. The fluctuation in BUN content, WBC and platelet count by TCDD intoxication were significantly attenuated by the ethanol extract treatment (20 mg/kg/day for 4 weeks). Treatments of rats with the extract (10 or 20 mg/kg/day) were significantly reduced AST and ALT levels compared with TCDD-treated group. Moderate swelling of hepatocytes, hyperchromatism, acidophilic cytoplasm and cytoplasmic vacuolation were observed in TCDD-treated animals (TCDD group). The administration of EtOH extract 10 or 20 mg/kg along with TCDD significantly alleviated the liver histopathological alteration induced by TCDD. These results suggest that Cornu Cervi Parvum extract can be useful as a protective agent against TCDD, an endocrine disruptor.

Key words : Cornu Cervi Parvum, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, protective effect, Sprague-Dawley rat

서 론

환경호르몬이란 독성이 있는 유해화학물질 중에 생체의 호르몬 분비기능에 변화를 일으키는 물질로서 최근 일본에서는 135개 화합물을 환경호르몬으로 규정짓고 있으나 실제로는 이보다 훨씬 많은 종류의 화합물이 포함될 것으로 판단된다. 환경호르몬의 정식 명칭은 “외인성 내분비교란물질”이라고 하며, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 및 polychlorinated biphenyls (PCBs)는 기존의 독성화학물질들 보다 극소량으로도 치명적인 독성을 야기할 수 있다. 이들 대부분은 지용성이므로

생체내 지방조직에 주로 축적되며, 먹이사슬에 농축된 것을 인간이 섭취하기 때문에 더욱 위험하다^{1,2,3}. 최근에 들어 호르몬과 유사작용을 하는 환경유해물질들에 관한 연구가 다수 보고되고 있는데, 이들은 호르몬 수용체와 반응하여 정상적인 내분비기능을 혼란시킴으로써 인체에 유해한 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다. 이러한 내분비교란물질(endocrine disrupting chemicals)은 플라스틱류, 비닐류 등의 생활용품 및 농,공산품 그리고 농약류 등에 함유되어 있으며, 공기, 물, 흙 등의 환경속에 광범위하게 존재한다⁴. 이들은 내분비 조절인자들과 작용하여 호르몬에 민감한 조직과 생식기 등에 암과 같은 질환을 일으킬 수 있다는 점에서 그 중요성이 대두되고 있다⁵. 이러한 내분비교란물질 중 TCDD, PCB, DDT, tributyltin(TBT), bisphenol A 등이 대표적인 물질이며, TCDD는 지금까지 인간에 의하여 합성된 화합물중 독

* 교신저자 : 이형철, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학
E-mail: lehc4@hanmail.net Tel: 063-850-6835
· 접수: 2002/04/17 · 수정: 2002/05/30 · 채택 : 2002/07/22

성이 가장 강한 물질로 알려져 있다⁶⁾. 이들 화합물은 성호르몬, 특히 에스트로겐과 유사한 작용을 하므로 내분비계를 혼란시키며, 그 결과 체중 감소, 생식기 기형 및 기능 저하, 간 독성, 암 발생, 정신 지체 및 행동 장애, 발생이상 등과 같은 독성작용이 유발된다^{6,7,8)}. 그 외에도 내분비교란물질에 의한 산화적 손상은 각종 염증, 류마티스관절염, 퇴행성 뇌질환과 같은 다양한 만성 질환과도 관련이 있는 것으로 생각된다^{9,10)}. 한편, 녹용(Cornu Cervi Parvum, 鹿茸)은 사슴과(Cervidae)에 속하는 매화록(*Cernus nippon*) 혹은 마록(*C. elaphus*)의 각화가 이루어지지 않은 어린 뿔을 지칭하며, 神農本草經에 最初로 수록된 이래 우리나라와 중국에서 인삼과 함께 가장 고귀한 韓方強壯劑로 널리 사용하고 있다. 현재까지 알려진 鹿茸의 효과는 여러 가지가 있으나 대표적으로 조혈기능^{11,12)}과 간장에 대한 효능^{13,14,15)}으로 요약할 수 있겠다. 이 외에도 다양한 질병의 치료에 사용되고 있는 녹용의 효능은 많은 연구자들이 현대과학의 생리학, 생화학 및 약리학적으로 그 작용기전을 규명하고자 노력하고 있으나 아직까지 유효성분이나 구체적인 약리작용 등이 밝혀지지 않은 상태이다. 녹용은 강장작용 및 조혈작용이 탁월한 것으로 판단되어 본 연구에서는 TCDD로 유도된 독성에 대한 녹용 추출물의 효과를 혈액학 및 병리조직학적 관찰을 통하여 조혈, 신장 및 간 기능에 대한 효과를 조사한 결과, 녹용추출물이 TCDD에 의하여 야기된 독성에 대하여 유의하게 방어하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. TCDD 및 녹용 추출물의 조제

TCDD는 AccuStandard Inc.(New Haven, CT, USA)로부터 순도 99.1% 이상의 화합물을 구입하여 사용하였다. TCDD는 극소량의 DMSO 및 아세톤에 녹인 다음 corn oil로 희석하여 최종 농도가 20 µg/ml이 되도록 조제하여 사용하였다. 녹용(Cornu Cervi Parvum, 鹿茸)은 서울 경동시장에서 국내산을 구입하여 감별한 후 사용하였으며, 현재 표준시료는 원광대학교 한의과대학 병리학교실에 보관되어 있다. 녹용은 80% EtOH로 추출한 다음 회전농축기를 사용하여 농축하였다. 농축된 시료는 진공건조기를 사용하여 수분 및 에탄올을 완전히 제거하여 사용하였다.

2. 실험동물의 사육조건

실험동물은 180±10g의 수컷 Sprague-Dawley rat을 한국 싼타코로부터 구입하여 본 동물사육실에 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 실험동물의 사육은 온도 23±1°C, 습도 40~60%, 환기는 1시간당 12~15회로 하였다. 1일 중 12시간은 200~300 Lux로 조명하고 12시간은 모든 빛을 차단하였다. 먹이는 삼양사의 사료로 매일 충분히 공급하였으며, 식수는 정제된 물로 제한 없이 공급하였다.

3. 실험군

실험군은 총 24 마리의 동물을 각 군 6마리씩, 4개 군으로 구성하였다. 즉, 실험군은 vehicle 복강투여 및 saline을 경구투여

한 정상군(CON), 40 µg/kg의 TCDD를 단회 복강투여 및 saline을 경구 투여한 TCDD 단독 투여군(TCDD), TCDD 복강투여 및 10 mg/kg의 녹용 추출물 병용 투여군(C/L+TCDD), TCDD 복강투여 및 20 mg/kg의 녹용 추출물 병용 투여군(C/H+TCDD)으로 구분하였다. 녹용추출물 및 saline은 TCDD 노출 1주일 전부터 투여하였으며, TCDD 복강투여 후 3주간 실험하였다.

4. 체중측정 및 장기적출

체중은 매일 측정하였으며, 시험종료 후 실험동물은 20% urethane으로 마취하고 심장천자로 채혈하였다. 장기의 적출은 해부한 다음 간, 폐, 신장, 비장 및 정소를 적출하여 무게를 측정하였다.

5. 혈액 및 혈청의 임상적인 지표 측정

혈액학적인 임상지표(적혈구, 백혈구, 혈소판, hamatocrit, hemoglobin)의 측정은 혈액자동 분석기인 SE-9000(TOA Medical Co., LTD, Japan)를 사용하여 분석하였으며, 혈청의 생화학적인 지표(총 단백질, 알부민, AST, ALT, ALP, γ-GTP, creatinine, BUN)는 생화학자동 분석기 Hitachi-747(Hitachi Medical Co., LTD Japan)를 사용하여 분석하였다.

6. 간 조직의 병리조직학적 관찰

간의 조직은 10% 중성 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매하여 3~5µm의 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin 염색하여 광학현미경 하에서 200배의 비율로 관찰하였다.

7. 통계처리

실험결과는 평균±표준편차(mean±SD)로 표기하였으며, 통계학적 분석은 Student's t-test를 사용하여 정상 대조군 혹은 TCDD 단독 투여군 대비 녹용 추출물 투여군간의 유의 차가 P<0.05 혹은 P<0.01 이하의 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

TCDD의 유도 독성은 동물의 종에 따른 큰 차이를 보이는 종 특이성이 있으며 투여농도 및 방법에 따라 차이를 보이고 있으나, 대부분의 동물에서 체중이 저하되는 것으로 보고되고 있다^{6,16)}. 본 연구결과에서도 마찬가지로 TCDD 투여시 체중감소가 관찰되었는데, TCDD 단독 투여군인 TCDD 실험군의 체중 증가는 TCDD 노출 후 4일째부터 서서히 둔화되기 시작하여 7일째는 267 g으로 CON group (284 g)에 비해 감소되는 경향을 보였으며, 마지막 4주째에는 248 g으로 CON 실험군 체중의 73%에 불과하였다(p<0.01). 녹용 추출물 병용투여군(C/L+TCDD, C/H+TCDD)의 경우 TCDD 노출로 인한 체중 감소가 억제되었으며, C/H+TCDD 실험군은 C/L+TCDD 실험군에 비하여 방어효과가 탁월한 것으로 관찰되었다(Fig. 1). 한편 장기의 중량에 미치는 효과에서도 체중 변화와 유사한 양상을 나타내었다. 즉, 간의 무

계에 있어서 TCDD 단독투여군인 TCDD 실험군에서는 CON 실험군에 비해 유의하게 감소한(p<0.05) 반면, 녹용 투여군들에서는 회복되는 경향은 보였지만 통계적 유의성은 관찰되지 않았다. 폐와 신장의 무게에 있어서는 TCDD 단독 투여군(TCDD)과 녹용 투여군들(C/L+TCDD, C/H+TCDD)과의 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 그러나 비장과 고환의 무게에 있어서는 대조군인 CON 실험군에 비해 TCDD 실험군에서 유의하게 감소된 반면, 녹용 추출물 투여군인 C/L+TCDD 실험군과 C/H+TCDD 실험군의 경우 비장은 C/H+TCDD에서, 고환은 C/L+TCDD 및 C/H+TCDD 실험군 모두에서 유의하게 회복되는 (p<0.01~0.05) 것으로 관찰되었다(Table 1). 따라서 녹용 추출물은 TCDD에 의해 각 장기무게의 감소에 따른 억제와 고환독성에 대한 방어효과가 있음을 시사한다고 하겠다(Table 1).

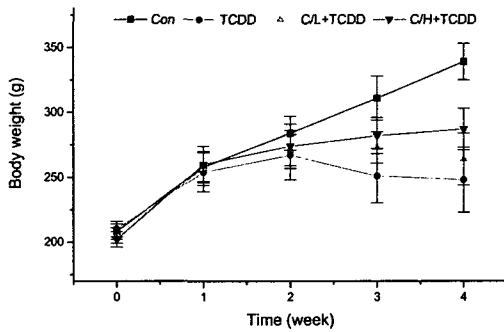


Fig 1. Effect of Cornu Cervi Parvum extract on body weight in TCDD-exposed in male rats. Data were obtained from 6 animals for each group and expressed in mean \pm SD. Abbreviations are as follows: CON, treatment of saline and vehicle; TCDD, TCDD (40 μ g/kg) alone treatment; C/L+TCDD, treatment of extract (10 mg/kg) and TCDD; C/H+TCDD, treatment of extract (20 mg/kg) and TCDD.

Table 1. Effect of Cornu Cervi Parvum extract on organ weight in TCDD-exposed in male rats

Group	Organ	Liver	Lung	Kidney	Spleen	Testis
Con		9.6 \pm 0.4	2.0 \pm 0.1	2.1 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	3.9 \pm 0.7
TCDD		7.5 \pm 2.0 [†]	1.9 \pm 0.2	1.9 \pm 0.2	0.6 \pm 0.2 [†]	2.9 \pm 0.6 [†]
C/L+TCDD		7.6 \pm 1.5	1.8 \pm 0.2	1.9 \pm 0.2	0.7 \pm 0.1	3.5 \pm 0.7*
C/H+TCDD		8.2 \pm 1.0	1.9 \pm 0.4	2.0 \pm 0.2	0.9 \pm 0.1*	3.8 \pm 0.5**

Data were obtained from 6 animals for each group and expressed in mean \pm SD. Data were analyzed using by student's t-test. [†] and * indicate p<0.05 and p<0.01 when compared with CON group, respectively. ** and *** indicate p<0.05 and p<0.01 when compared with TCDD group, respectively. Notes on group designation are the same as Fig. 1.

TCDD에 노출된 경우 백혈구 수 특히, 임파구 및 혈소판 수의 감소는 동물 종에 따라 다소 차이는 있으나 일반적으로 감소하는 것으로 보고되었으며^{16,17)}, 홍삼을 투여한 경우에는 TCDD의 독성에 의해 감소된 임파구 및 혈소판 수가 유의하게 증가되어 회복되는 양상을 보였다¹⁶⁾. 다른 연구결과와 본 실험에서도 백혈구와 혈소판의 수가 TCDD 단독 투여한 경우 유의하게 감소하였다(Table 2). 혈소판수의 감소는 말초혈액에서 TCDD의 독성에 의한 혈소판의 감소의 가능성과 골수에서 거핵구의 감소에 의해 혈소판 생성의 감소에 의한 가능성이 있으나, 혈소판의 감

소는 골수내 거핵구의 억제에 의한 가능성이 높다고 생각된다. 적혈구계의 감소는 다이옥신 투여에 의하여 적혈구 수, hematocrit 및 hemoglobin이 모두 감소하였음을 의미한다. 본 연구에서 TCDD의 투여는 대조군(CON)에 비해 유의한 차이는 없으나 적혈구계의 전반적인 감소양상을 보였는데, 이는 TCDD의 체내 이입으로 생성된 free radical에 의한 혈구 막 손상 뿐만 아니라 조혈기능이 저하 또는 조혈에 필요한 인자들의 부족에서 기인된 것이라고 생각된다. 한편, 녹용 추출물에 대한 연구결과에 있어서는 건강한 토끼에 phenylhydrazine을 이용하여 용혈성 빈혈을 유도한 후 녹용의 물 추출물을 투여한 결과 빈혈의 유발 속도를 지연시켰으며, 빈혈상태로부터의 회복기간을 단축시켰고¹¹⁾, 김 등¹²⁾은 녹용 추출물이 heme의 전구체인 δ -aminolevulinic acid dehydrogenase의 활성을 촉진하여 조혈작용을 돕는다고 하였으며, 이들 기전은 조혈인자중의 하나인 erythropoietin의 생성 증가의 가능성과 또한 녹용에 함유된 미량원소나 아미노산이 단백질을 촉진하여 조혈작용을 도울 가능성 등을 제시하였다. 본 연구에서는 TCDD 단독 투여군에 비해 고농도의 녹용 및 TCDD의 병용 투여한 C/H+TCDD 실험군에서 백혈구 및 혈소판의 수가 유의한 증가를 나타내었다(Table 2).

Table 2. Effect of Cornu Cervi Parvum extract on hematological parameter in TCDD-exposed in male rats

Group	Blood cells				
	RBC ($\times 10^9$ /ml)	WBC ($\times 10^3$ /ml)	Hct(%)	Hb(g/dl)	PLT ($\times 10^3$ /ml)
Con	5.41 \pm 0.20	8.0 \pm 1.6	42.1 \pm 1.2	14.2 \pm 0.9	804 \pm 84
TCDD	4.94 \pm 0.36	4.2 \pm 1.3 [†]	37.5 \pm 1.3	13.1 \pm 0.8	587 \pm 102 [†]
C/L+TCDD	5.14 \pm 0.15	5.5 \pm 2.6	39.2 \pm 1.5	13.9 \pm 0.5	658 \pm 97
C/H+TCDD	4.95 \pm 0.17	6.8 \pm 0.9*	38.7 \pm 1.1	13.7 \pm 0.4	733 \pm 79**

Data were obtained from 6 animals for each group and expressed in mean \pm SD. Data were analyzed using by student's t-test. Symbol ([†]) indicate p<0.01 when compared with CON group. * and ** indicate p<0.05 and p<0.01 when compared with TCDD group, respectively. Abbreviations are as follows: RBC, red blood cell; WBC, white blood cell; Hct, hematocrit; Hb, hemoglobin; PLT, platelet. Notes on group designation are the same as Fig. 1.

따라서 TCDD에 의해 혈액에 미치는 독성에 녹용 성분이 탁월한 방어효과를 나타내지 못하는 것으로 생각되며, 본 연구결과를 바탕으로 골수 검사와 더불어 조혈에 관여하는 여러 가지 인자들에 대한 연구가 더욱더 필요하다고 생각된다. 신장은 생체의 대사과정에서 생긴 불필요한 노폐물을 체외로 배설시키고, 체액의 전해질 및 pH 조절을 통하여 신체의 항상성을 유지시켜 주는 중요한 역할을 담당하는 동시에 항이노 호르몬 생성에 중요한 역할을 하는 내분비 기능에도 관여한다. 신장 독성을 일으키는 물질은 매우 다양하며, 그 독성양상 역시 동물에 따라 차이가 있다. 아직 명확하게 그 기전이 밝혀지지는 않았지만 신장이 독성 물질의 표적이 되는 이유는 혈류량이 많으며, 노폐물을 여과시키는 과정에서 혈액에 함유된 독성물질에 그만큼 노출될 기회가 높고 일시적으로 저장되는 동안 독성물질의 농축이 일어나기 때문이라 생각된다. 본 연구에서 creatinine 함량은 대조군(CON)에 비해 다른 모든 실험군에서 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 관찰되지 않았다. BUN(blood urea nitrogen)은 CON

실험군에 비해 TCDD 단독 투여군에서 약 200% 증가하였고, 저농도의 녹용 투여군인 C/L+TCDD 실험군에서는 억제되는 경향을 보였으나 유의한 차이가 관찰되지 않은 반면, 고농도의 녹용 투여군인 C/H+TCDD 실험군에서는 약 61%로 유의하게 억제되었다($p < 0.01$). 요산의 경우 대조군(CON)에 비해 TCDD 단독 투여군에서 70%의 유의한 증가를 보였으나($p < 0.01$) 녹용 추출물 투여군인 C/L+TCDD 및 C/H+TCDD 실험군에서는 다소 회복되는 경향은 보였으나 통계적인 유의성은 인정되지 않았다(Table 3). Kirsch 등¹⁸⁾의 연구 결과에 의하면 TCDD는 신장에서 무기이온의 운반 매개체로 작용하는 GSH-S-aryltransferase의 활성을 증가시킨다고 하였으며, 이 효소의 세포 내 농도 변화는 신장세포에서 무기이온의 운반용량에 영향을 주고 TCDD의 선택적 작용에 의해 영향을 받는다고 하였다. 본 연구에서도 BUN의 유의적인 증가를 볼 때(Table 3), TCDD를 투여한 경우 신장에 손상을 가져오는 것으로 판단되며, 고농도의 녹용 추출물을 투여한 경우에만 다소 회복되는 경향을 나타내었다. 본 연구에서 혈청의 총단백질 함량과 albumin의 경우 대조군에 비하여 TCDD 단독 투여군에서 감소하는 경향은 보였으나 통계적인 유의성은 관찰되지 않았고, 녹용 투여군인 C/L+TCDD 및 C/H+TCDD 실험군에서는 회복되는 경향을 보였으나 역시 통계적인 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 혈청중 간기능의 지표인 AST 및 ALT는 대조군인 CON 실험군에 비해 TCDD 노출된 경우 각각 약 266배 및 136배의 현격한 증가를 나타내었다.

Table 3. Effect of Cornu Cervi Parvum extract on renal function in TCDD-exposed in male rats

Group	Cre (mg/dl)	BUN (mg/dl)	UA (mg/dl)
CON	0.6±0.2	25±12	5.0±0.2
TCDD	0.4±0.1	54±17 [†]	3.5±0.6 [†]
C/L+TCDD	0.5±0.2	41±11	4.1±0.5
C/H+TCDD	0.5±0.2	33±12 ^{**}	4.2±0.4

Data were obtained from 6 animals for each group and expressed in mean ± SD. Data were analyzed using by student's t-test. Symbol ([†]) indicate and p<0.01 when compared with CON group. Symbol (^{**}) indicate p<0.01 when compared with TCDD group. Abbreviations are as follows: Cre, creatinine; BUN, blood urea nitrogen; UA, uric acid. Notes on group designation are the same as Fig. 1.

반면 저농도의 녹용 투여군(C/L+TCDD)은 TCDD 실험군에 비해 AST 및 ALT 활성이 약 64% 및 88%로 현저한 감소가 관찰되었으며, 고농도의 녹용 투여군(C/H+TCDD)은 TCDD 실험군에 비해 약 49% 및 77%로 유의한 감소가 확인되었다. ALP와 γ -GTP의 경우에는 CON 실험군에 비하여 TCDD 단독 투여군 및 녹용 투여군들 모두에서 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 관찰되지 않았다(Table 4). TCDD의 생체내 흡수는 혈청 중 bilirubin, glucose, protein, cholesterol 함량뿐만 아니라 alkaline phosphatase, SGOT, SGPT 활성이 증가한다고 보고하였으며¹⁹⁾, hepatic mixed function oxidase의 변화²⁰⁾와 단백질의 합성이 증가하는 것으로 보고된 바 있다²¹⁾. 또한 TCDD는 간의 이물질대사효소인 cytochrome P450을 유도하며, 특히 CYP1A1 및 CYP1A2 isozyme의 유도는 TCDD 노출에 대한 biomarker로 잘 알려져 있다²²⁾. 본 연구결과에서도 TCDD가 간독성을 유발함을 알 수 있었으며 녹용 추출물이 유도된 간 독성을 완화시켜주는

것으로 판단된다. 혈청의 AST 및 ALT의 결과와 마찬가지로 간의 조직학적으로 관찰한 결과에서는 TCDD에 의해 간 손상이 유도되었으며, 녹용 추출물의 투여로 간 독성을 완화시켜주었다. 즉, 대조군인 CON 실험군의 간 세포에서는 간 소엽, sinusoid 구조의 변성이나 중심정맥주위성 변화, 담관 및 문맥주위의 특이적인 변화나 소견이 관찰되지 않았다(Fig. 2).

Table 4. Effect of Cornu Cervi Parvum extract on liver function in TCDD-exposed in male rats

Group	TP (g/dl)	Alb (g/dl)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ -GTP (IU/L)
Con	6.0±0.2	3.2±0.2	102±19	77±10	257±17	18±3
TCDD	5.5±0.5	2.9±0.2	271±34 [†]	105±34 [†]	297±57	27±2
C/L+TCDD	5.7±0.3	2.9±0.5	173±27 ^{**}	88±16 [*]	275±16	25±6
C/H+TCDD	5.8±0.2	2.9±0.1	134±15 ^{**}	81±5 [*]	264±16	24±1

Data were obtained from 6 animals for each group and expressed in mean ± SD. Data were analyzed using by student's t-test. Symbol ([†]) indicate p<0.01 when compared with CON group. * and ** indicate p<0.05 and p<0.01 when compared with TCDD group, respectively. Abbreviations are as follows: TP, Total protein; Alb, albumin; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; γ -GTP, gamma-glutamyl transferase. Notes on group designation are the same as Fig. 1.

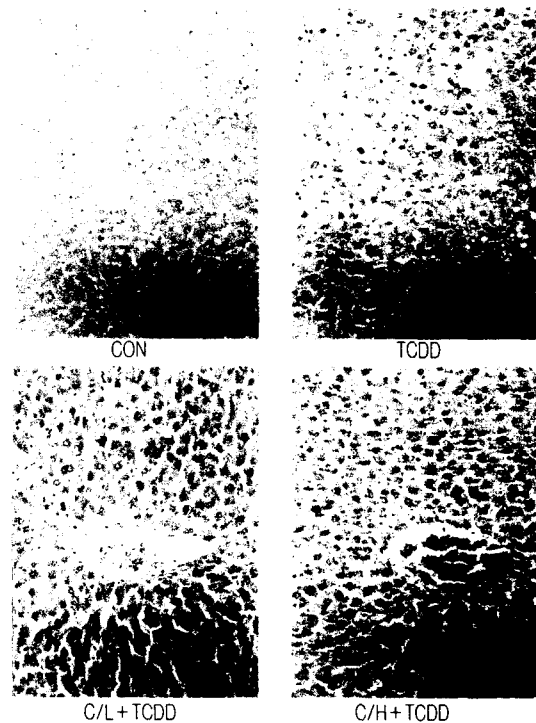


Fig. 2. Effect of Cornu Cervi Parvum extract on liver of TCDD-exposed in male rats. Notes on group designation are the same as Fig. 1. CON: Hepatocyte are radially oriented to the central or portal vein and surrounding. TCDD: Moderate swelling of hepatocytes, hyperchromatism of individual cells, acidophilic cytoplasm and cytoplasmic vacuolation on of some hepatocytes, variations of staining density, variable size and shape of some hepatocytes, small groups of degenerating hepatocytes surrounded by mononuclear cells, dilated sinusoids of centrilobular zone and some loss of lobular architecture (X200, H&E). C/L+TCDD: Cytoplasmic swelling vacuolation of some hepatocytes and multifocal degenerating hepatocytes surrounded by mononuclear inflammatory cells (X200, H&E). C/H+TCDD: Figures shows diffuse ballooning degeneration of hepatocyte, and patchy infiltrates of mononuclear inflammatory cell (X200, H&E).

Buu-Hoi 등²²⁾은 TCDD가 작용하는 주요 장기는 간이라고 주장하면서 혈청내 효소 활성의 특이할 만한 변화와 necrotic centrilobular lesion을 포함한 간 기능의 parameter들이 변화를

보고한 바 있다. 또한 Kimbrough 등²³⁾은 간의 조직화적인 변화에서도 혈청화적인 변화에서의 유사하게 간세포의 팽윤과 일부 세포핵의 과염색상, 세포질의 공포 및 지방성변형 등이 유의하게 관찰되었고, 이러한 조직학적 변화에서의 기전은 TCDD에 의해 lipid peroxidation의 증가됨에 따라 parenchymal cell의 hyperplasia 및 hypertrophy과 같은 현상에서 기인된 것으로 보고한 바 있다. 이러한 결과와 마찬가지로 TCDD 단독 투여군의 간세포에서는 팽윤과 일부 세포 핵의 과염색상, 호산성 세포질화 및 cytoplasmic vacuolation, fatty metamorphosis 및 세포 크기의 다양성, 변성된 세포 주위로의 단핵염증세포의 침윤, 중심엽 지역의 sinusoid가 증가되는 등 유의한 소견들이 관찰되었다. 반면 녹용 추출물의 병용투여군인 C/L+TCDD 실험군과 C/H+TCDD 실험군에서는 TCDD 단독 투여군에서 나타났던 병변이 유의하게 억제되었으며, C/L+TCDD 실험군에 비해 C/H+TCDD 실험군에서 유의하게 방어하는 것으로 관찰되었다(Fig. 2). 녹용 추출물은 free radical의 증가로 인한 지질과산화 반응의 증가현상을 억제시키며²⁴⁾ 간세포의 mitochondria 기능 장애를 경감시킨다고 알려져 있는데¹³⁾, 본 연구결과에서도 TCDD에 의한 간독성을 완화시키는 것이 간 조직의 현미경적 관찰에서 확인되었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 녹용 추출물은 TCDD의 독성을 전반적으로 경감시켜주며, 특히 생식기 장애 및 간 독성에 효과가 있는 것으로 판단된다. 따라서 추후 간의 이물질대사 효소계 및 생식기 기능과 관련된 지표들에 대한 연구가 필요하다고 사료된다.

결 론

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD) 및 polychlorinated biphenyls(PCBs)에 대한 독성 및 생물농축은 인간 및 다양한 생물종에서 연구가 진행되고 있으며, 인간에서 TCDD의 노출은 먹이를 통해 이루어진다. 따라서 본 연구에서는 dioxin(TCDD)의 독성을 경감시킬 수 있는 천연물을 탐색하고자 TCDD에 노출된 흰쥐에서 임상적인 생화학적 지표 및 간독성에 대한 녹용(Cornu Cervi Parvum, 鹿茸) 추출물의 보호효과를 조사하였다. 흰쥐에 TCDD 40 μ g/kg을 단회 복강투여하였으며, 녹용 에탄올 추출물은 TCDD 투여 1주일 전부터 4주 동안 10 혹은 20 mg/kg을 경구투여하였다. 체중의 증가는 대조군(CON 실험군)에 비해 TCDD 단독 투여한 경우 감소된 반면, TCDD에 의해 감소된 체중은 고농도(20 mg/kg/day)의 녹용 추출물의 투여한 경우 회복되었다. TCDD의 독성에 의한 BUN 함량, 백혈구 및 혈소판 수의 변화 정도는 고농도의 녹용 추출물(20 mg/kg)의 투여군에서만 유의적으로 회복되었다. TCDD 단독 투여군(TCDD 실험군)에서는 간세포의 팽윤, 세포핵의 과염색상, 호산성 세포질화 및 세포질의 공동화 등의 조직병리학적 소견이 관찰되었다. 녹용 추출물(10 mg/kg 혹은 20 mg/kg) 및 TCDD를 병용 투여한 경우에는 TCDD의 간 독성에 의한 병리조직학적 변화가 다소 회복되었다. 이러한 결과는 녹용 추출물이 TCDD의 독성에 대한 보호물질로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Colborn, T., Dumanoski, D., and Myers, J.P. Our stolen Future. Putton, New York, endocrine-disruption chemicals in wildlife and humans. Environ. Health Perspect. 101, 378-384, 1996.
- Ashby, J., Houthoff, E., Kennedy, S.J., Stevens, J., Bars, R., Jekat, F.W., Campbell, P., Miller, J.V., Carpanini, F.M., and Randall, G.L.P. The challenge posed by endocrine-disrupting chemicals. Environ. Health Perspect. 105, 164-169, 1997.
- Olea, N., Pazos, P., and Exposito, J. Inadvertant exposure to xenoestrogens. Eur. J. Cancer. Prev. 1, 17-23, 1998.
- Safe, S.H. Polychlorinated biphenyls (PCBs): environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. Crit. Rev. Toxicol. 24, 87-149, 1994.
- Juberg, D.R. Evaluation of endocrine modulators: implication for human health. Ecotoxicol. Environ. Saf. 45, 93-105, 2000.
- Poland, A., and Knuston J. C. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 22, 517-554, 1982.
- Kociba, R.J., Keeler, P.A., Park, C.N., and Gehring, P.J. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD): results of a 13-week oral toxicity study in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 35, 553-574, 1976.
- Theobald, H.M., and Peterson, R.E. In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin : effects on development of the male and female reproductive system of the mouse. Toxicol. Appl. Pharmacol. 145, 124-135, 1997.
- Fahn, S., and Cohen, G. The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. Ann. Neurol. 32, 804-812, 1992.
- Halliwell, B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lancet 344, 721-724, 1994.
- 용재익. 녹각이 cholesterol 투여 가토의 간 조직 및 각 장기에 미치는 영향. 약제학회지 6, 20-25, 1976.
- 김길원, 박시원. 녹용추출액의 조혈작용에 관한 연구. 한국생화학회지 15, 151-157, 1982.
- 박종현, 고흥균, 김창환. 녹각 수지침이 CCl₄ 중독 흰쥐 손상 간에 미치는 영향. 경희대학의대 논문집. 10, 627-642, 1987.
- 용재익. Cholesterol 투여 가토의 혈청 중 cholesterol에 미치는 가토의 영향. 대한한의학회지 2, 7-9, 1981.
- 이학인. 녹각이 백서 간장 조직에 미치는 영향에 관한 조직화학적 연구. 경희대학교 한의과대학 논문집 3, 35-50, 1987.
- 황석연, 김시관, 김신희, 꺾이성, 정영진. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin 투여로 급성독성을 유도한 웅성 기니피에 있어 임상화학회수에 미치는 홍삼의 효과. 한국식물영양과학회지,

- 28, 1349-1354, 1999.
17. Huff, J.E., Salmon, A.G., Hopper, N.K., and Zeise, L. Long-term carcinogenesis studies of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and hexachloro-dibenzo-*p*-dioxin. *Cell Bio. Toxicol.* 7, 67-94, 1991.
 18. Kirachi, R., Fleischer, K., Kamisaka, and Arias, I.M. Effect of renal function in the rat. *J. Clin. Invest.* 55, 1009-1015, 1975.
 19. Hook, G.E., Haseman, R.J.K., and Lucier, G.W. Induction and Suppression of hepatic and extra-hepatic microsomal foreign compound metabolizing enzyme system by 2,3,7,8-TCDD. *Chem. Biol. Interact.* 10, 199-214, 1975.
 20. Greig, J.B., Jones, G., Butler, W.H., and Barnes, J.H. Toxic effect 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Food Cosmet. Toxicol.* 11, 585-595, 1973.
 21. Cunningham, H.M., and Williams, D.T. Effect of tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on growth rate and synthesis of lipid and proteins in rats. *Bull. Environ. Contam.* 7, 45-51, 1972.
 22. Tritscher, A.M., Goldstein, J.A., Portier, C.J., McCoy, M., Clark, G.C., and Lucier, G.W. Dose-response relationships for chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rat tumor promotion model: Quantification and immunolocalization of CYP1A1 and CYP1A2 in the liver. *Cancer Res.* 52, 3436-3442, 1992.
 23. Buu-Hoi, N.P., Harris, Moore, J.A., and Vos, J.G. Organism as targets of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in toxication. *Naturwiss.* 59, 174-183, 1972.
 24. Kimbrough, R.D., Carter, C.D., Liddle, J.A., Cline, R.E., and Phillips, P.E. Epidemiology and pathology of a 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin poisoning episode. *Arch. Environ. Health.* 32, 77-85, 1977.
 25. Wang, B.X., Zhao, X.H., Yang, X.W., Kaneko, S., Hattori, M., Namba, T., Namura, Y. Identification of the inhibitor for monoamine oxidase B in the extract from deer antler (Rokujo). *和韓醫學會誌* 5, 116-122, 1988.