

Cadmium으로 유발된 간독성에서 SOD활성과 조직학적 변화에 대한 스쿠알렌의 효과

최영복*, 김종세, 김정삼¹, 조광필¹, 황구연², 박정평³
조선대학교 자연과학대학 생물과학부, ¹목포과학대학 물리치료과
²서강정보대학 임상병리과, ³조선대학교 의과대학 동물실험센터

Effects of Squalene on SOD Activity and Histological Changes in Liver Toxicity Induced by Cadmium

Young-Bok Choi*, Jong-Se Kim, Jung-Sam Kim¹,
Kwang-Pil Cho¹, Koo-Yeon Hwang², Jung-Pyung Park³
Dept. of Biological Sciences, College of Natural Sciences, Chosun University
¹Dept. of Physical Therapy, Mokpo Science College
²Dept. of Clinical Pathology, Seokang College
³Animal Experiment Center, College of Medicine, Chosun University
(Received July 6, 2002; Accepted July 27, 2002)

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the effect of squalene (SQ) on the mouse hepatotoxicity induced by cadmium. ICR male mouse weighting about 30 gm were injected CdCl₂ (5.0 mg/kg) and SQ (180 mg/kg) into intraperitoneal. At the 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 days, livers were treated with superoxide dismutase (SOD) activity and transmission electron microscopical method and then observed with electron microscope. The results obtained were summarized as follows:

SOD activity in the liver, Group A was higher than in normal. Group B was lower than in Group A.

In the histological observation, nucleus of Group A showed irregular shape. Inner cavity of mitochondria swollen and development of cristae weakened. Swelling of Lamellae of rough endoplasmic reticulum (RER) showed. Nucleus of group B showed normal shape. Typical lamellae of RER were observed.

These results described above treatment of SQ decreased the hepatotoxicity of the CdCl₂ and SOD activity in the mouse liver, and then it suggests SQ may be effective for the recovery of hepatic cell.

Key words : Cadmium, Hepatotoxicity, SOD, Squalene

이 논문은 1999학년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Young-Bok Choi, Department of Biological Science, College of Natural Science, Chosun University, #375 Seosuk-dong, Kwangju, 501-759, Korea. Ph.: (062) 230-6655, FAX: (062) 230-4326

Copyright © 2002 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

Squalene (hexamethyltetracosahexane, C₃₀H₅₀; 이하 SQ라 함)은 심해상어의 간에서 추출되는데 콜레스테롤 합성 과정 중 mevalonate의 인산과정 후 farnesyl pyrophosphate를 거쳐 합성되고 squalene epoxide와 lanosterol을 거쳐 콜레스테롤이 합성되어지는데 탄화수소 사슬들이 이중결합을 갖고 있어 불안정하며 쉽게 산화될 수 있다 (Saint-Lenger et al., 1986). SQ은 여러 식물에서도 합성되며 동물에서는 주로 간에서 합성이 이루어지며 피부, 복부지방조직, 피하지방조직, 림프절, 췌장 및 심장근 등에 다량 포함되어 있다. 한편 SQ은 6개의 이중결합이 있어 산소 이온과 쉽게 결합할수 있기 때문에 유해 산소를 제거할 수 있다고 보고되었다 (Liu et al., 1976). 또한 SQ은 심장 활동력의 증가, 상처 치유, 혈관의 확장, 동맥 경화의 억제 작용을 하기 때문에 건강 식품으로 사용되어지고 있다 (Budiarso, 1990).

Squalene synthetase (SQS)는 콜레스테롤 생합성 과정에 관여하는 효소로서, LDL (low density lipoprotein)의 혈중농도를 낮추기 위한 개선제로 사용하기 위하여 연구가 진행되고 있다 (McTaggart et al., 1996).

사람에게 SQ을 투여한 후 흡수 정도와 혈청내 SQ의 농도에 관한 연구 (Stranberg et al., 1990), 조혈 조직의 높은 방사선 감수성에 따른 적혈구 세포막에서 sterol과 SQ 함량의 변화에 따른 연구 (Palamarchuk, 1990), 흰쥐의 간세포에서 SQ의 합성에 관여하는 세포소기관에 관한 연구보고 (Kostas et al., 1993)가 있었으며, Desai et al. (1996)에 의하면 중량을 갖고 있는 생쥐에 SQ을 포함하는 화합물인 Roindex를 처치했을 때 처치군의 33.34%에서 중앙 중식이 억제되었다고 보고하였다.

Storm et al. (1993)은 C₃H 수컷 생쥐에서 2%의 SQ이 함유된 먹이를 먹인 후 방사선을 조사하였을 경우 대조군보다 훨씬 오래 생존하였다고 하였다. Tilvis & Miettinen (1983)에 의하면 1%의 SQ이 함유된 먹이를 먹은 흰쥐는 SQ와 methylsterol이 현저하게 증가한다고 보고하였다.

중금속중에서도 cadmium (이하 Cd라 함)은 부식되

지 않는 성질 때문에 전기도금, Cd-bearing 합금, Paint의 색소, Cadmium-Nickel battery, PVC plastic의 안정제, 원자로의 제어봉 등 각종 공업원료로 사용되어진다 (Klaassen & Wong, 1981; Andersen, 1984; Shukla & Singhal, 1984). 한편 Cd는 수은, 안티몬, 비소와 더불어 그 독성이 강하여 생체내에 흡수되면 생물학적 반감기가 약 16년으로 나이가 들수록 Cd의 체내 축적은 증가하게 된다 (Webb, 1972). 체내로 섭취된 대부분의 Cd는 간과 신장에 축적되어 신장에서는 세뇨관과 사구체에 손상을 가하여 단백뇨 (Piscator 1962, 1966), 당뇨 (Shukla & Singhal, 1984) 및 효소노증상을 나타내고 (Axelsson, 1968), 간장기능의 저하를 초래한다고 하였다 (Shaikh & Lucis, 1972). 이 외에도 Cd의 중독으로 인해 호흡기 장애 (Takenaka et al., 1983), 골연화증 (Itokawa, 1973), 빈혈 (Berlin, 1961; Fox et al., 1971), 고혈압 (Schroeder & Vinton, 1962; Schroeder, 1965; Thind et al., 1970; Perry & Yunice, 1965), 고환괴사 (Gunn et al., 1966; Parizek & Zahor, 1956; Powell et al., 1964) 및 성장 억제작용 (Webster, 1978) 등이 나타난다. 이러한 Cd의 중독을 예방 및 치료하기 위한 많은 연구 결과에 의하면, Ohm et al. (1986), Lee et al. (1986)은 Cd를 마늘과 여러 가지 -SH기 화합물을 동시 혹은 이후에 투여한 결과 BAL (British Anti Lewisite; 2, 3-dimercapto-1-propanol)이나 DMSA (2, 3-dimercaptosuccinic acid)를 투여한 군보다 마늘 투여군이 간, 신장 및 고환에서 적은 양의 Cd가 축적되었음을 보고하였고, 치사량 투여후 동물의 생존율을 향상시키기 위한 처치로 노분비 증가에 의한 Cd의 배출을 촉진시키거나 여러 조직내에서 Cd를 착화시키는 chelating agents를 구강 혹은 복강 투여하였다 (Cantilena & Klaassen, 1981).

본 실험에서는 SQ를 이용하여 카드뮴으로 유발된 생쥐 간에서 superoxide dismutase (이하 SOD라 함)의 활성도 변화를 측정하고 조직학적 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용한 실험동물은 체중이 30±2 gm내

외의 외관상 건강한 ICR계 웅성 mouse를 구입하여, polycarbonate cage (40×25×17 cm)에 담아 온도 23±2°C, 습도 50±5%의 최적 환경조건에서 사육하였다. 먼저 실험동물을 카드뮴 단독투여군(Group A)과 SQ-CdCl₂ 병합투여군(Group B)으로 구분하였고, 다시 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7일 경과군으로 구분하고, 각 군마다 20마리씩 총 140마리를 사용하였다.

2. 실험동물 처치

카드뮴 단독투여군(Group A)은 CdCl₂를 2차 증류수에 희석시켜 복강투여 (5.0 mg/kg)하였다. SQ와 CdCl₂ 병합투여군(Group B)은 SQ (180 mg/kg, 2회/1일)과 CdCl₂를 복강으로 주사 (5.0 mg/kg)하였다. SQ는 세모(주) 제품을 사용하였다.

3. SOD 측정

간조직의 1g당 4배량의 0.25 M sucrose buffer (pH 7.5)를 가하여 빙냉하에서 homogenizer(10,000×g, 2분)로 균질화하였다. 이 균질액을 4°C, 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미균질액 부분을 제거한 후 상층액을 4°C, 15,000×g에서 20분간 원심분리하여 SOD 활성도 측정의 효소원으로 사용하였다.

SOD 활성도는 Crapo 등(1978)의 방법에 의해서 xanthine, xanthine oxidase 및 cytochrome C를 이용하여 측정하였다. 즉 시험관에 100 mM phosphate buffer (pH 7.8) 2.3 ml에 0.5 mM xanthine 0.3 ml와 0.1 mM cytochrome C 0.3 ml를 넣고 혼합하여 xanthine oxidase 용액을 첨가하여 550 nm에서 1분간 변화되는 흡광도를 측정하였다. 흡광도의 증가속도가 매분당 0.02가 되도록 xanthine oxidase량을 조절하였다. 효소의 활성도는 상기 조건에서 조효소액을 기하여 증가되

는 흡광도를 측정하였고, cytochrome C 환원속도를 50% 억제하는 효소량을 1 unit로 표시하였다.

4. 전자현미경의 관찰

실험동물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7일 간격을 두고 경추탈구로 희생시킨 후, 간조직의 일부를 적출하였다. 적출된 간조직은 신속하게 1 mm³의 크기로 잘라서 2.5% glutaraldehyde 용액에서 2시간 전고정하였다. 전고정한 후 완충액 (pH 7.4, 0.1 M cacodylate 완충액, 4°C)을 사용하여 3회 수세하였다. 1% osmium tetroxide (OsO₄) 용액으로 2시간 후고정한 후, 동일 완충액으로 3회 수세하였다. 저농도의 ethanol (50%)로부터 ethanol 계열하에 탈수하고, propylene oxide와 1:1, 1:2로 3시간씩 침투시켰으며, epon mixture 원액에서 overnight후 포매하였다. 그리고 37°C에서 2시간, 45°C에서 12시간, 60°C에서 48시간 동안 열중합하였다. Epon block을 1 μm로 박절하여 1% toluidine blue로 염색한후 광학현미경으로 관찰하여 특정부위를 정하고 삭정한 다음, diatome을 부착시킨 ultramicrotome (MT-7000)으로 60 nm의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경 (JEOL, JEM-100CX II)으로 가속전압 80 kV하에서 관찰하였다.

결 과

1. SOD 활성도

정상군의 간조직에서 SOD의 활성도는 1.52±0.20, 1.52±0.43, 1.52±0.14, 1.51±0.05, 1.51±0.21, 1.51±0.24, 1.50±0.21 U/mg이었다. 카드뮴 단독투여군의

Table 1. Activity of SOD for cadmium and/or squalene in mouse liver

(units: U/mg)

Group	Days						
	1	2	3	4	5	6	7
Normal	1.52±0.20	1.52±0.43	1.52±0.14	1.51±0.05	1.51±0.21	1.51±0.24	1.50±0.21
Group A	5.71±0.32*	4.34±0.18*	3.99±0.24*	3.45±0.27*	2.98±0.15	2.32±0.14	1.60±0.35
Group B	5.09±0.34*	4.04±0.15*	3.50±0.17*	3.32±0.13*	2.76±0.08	2.18±0.04	1.54±0.23

All values are average S.D.

*P<0.01 as compared with Normal

SOD 활성도는 5.71 ± 0.32 , 4.34 ± 0.18 , 3.99 ± 0.24 , 3.45 ± 0.27 , 2.98 ± 0.15 , 2.32 ± 0.14 , 1.60 ± 0.35 U/mg 으로 정상군에 비해 증가하는 경향을 보였다. 그리고 SQ+카드폴 병합투여군의 SOD 활성도는 5.09 ± 0.34 , 4.04 ± 0.15 , 3.50 ± 0.17 , 3.32 ± 0.13 , 2.76 ± 0.08 , 2.18 ± 0.04 , 1.54 ± 0.23 U/mg으로 카드폴 단독투여군에 비해 감소하는 경향을 나타내었다(Table 1).

2. 전자현미경적 관찰

정상군의 핵은 둥근 원형을 이루었고, 여러 형태의 미토콘드리아가 세포질에 많이 분포되었으며 조면소포체는 전형적인 층판구조가 관찰되었다(Fig. 1).

카드폴 단독 투여군(Group A)에서 1일군의 핵은 함입되어 불규칙하고 핵막이 팽대되었다. 미토콘드리아는 팽대되어 내부 능선이 파괴되었다. 조면소포체는 수조가 팽대되고 리보솜의 탈락이 관찰되었다(Fig. 2). 2일군의 핵은 함입되어 불규칙하고 핵막은 팽대되었다. 미토콘드리아는 팽대되어 내부능선이 파괴되었으며, 조면소포체는 수조가 더욱 팽대되고 공포화 현상이 관찰되었다(Fig. 4). 3일군의 핵은 둥근 형태로 관찰되었으나 핵막은 팽대되어 내외막과 핵공의 구별이 불분명하였다. 미토콘드리아는 심하게 팽대되어 내부 능선의 손실로 전자밀도가 낮게 관찰되었다. 조면소포체에서 리보솜이 탈락되어 유리 리보솜의 수가 증가하였다(Fig. 6). 4일군의 핵은 둥근 형태로 관찰되었으며 미토콘드리아는 약간 팽대되었다. 조면소포체는 리보솜이 부착된 정상적인 형태로 관찰되었다(Fig. 8). 5, 6, 7일군의 핵은 둥근형태의 정상으로 보였다. 미토콘드리아는 약간 팽대되었고 조면소포체는 전형적인 층판구조를 형성하였으나 일부에서 리보솜의 탈락이 관찰되었다(Figs. 10, 12, 14).

SQ와 카드폴 병합투여군(Group B)에서 1일군의 핵은 둥근형태로 정상적인 모양을 나타냈다. 미토콘드리아는 기다란 형태의 정상적인 모양이었으나 일부 막이 불규칙해졌다. 조면소포체는 리보솜이 부착된 정상적인 형태로 층판구조를 형성하였다(Fig. 3). 2일군의 핵은 둥근 형태이고 미토콘드리아는 약간 팽대되었으며 일부 조면소포체에서 리보솜의 탈락이 관찰되었다(Fig. 5). 3일군의 핵과 핵막은 정상적인

형태로 관찰되었고, 미토콘드리아는 약간 팽대되었으나 조면소포체는 정상적인 형태로 관찰되었다(Fig. 7). 4, 5, 6, 7일군의 핵들은 둥근형태로 관찰되었으며 미토콘드리아들은 기다란 형태의 정상적인 모양으로 관찰되었다. 조면소포체들은 리보솜이 부착된 정상적인 형태로 전형적인 층판구조를 형성하였다(Figs. 9, 11, 13, 15).

고 찰

1948년에 Cd 중독시 심한 단백뇨를 동반한 tubular dysfunction이 있다는 사실이 보고된 이래 (Piscator, 1966), 이 물질은 산업의 발달과 함께 의학적으로 많은 학자들의 연구대상이 되어왔다. Cd은 주로 폐나 위장관을 통해 들어와 간에서 대사되고 신장을 통하여 배설되기 때문에 이들 장기에 관한 임상의학적 연구들(Stowe et al., 1972; Cook et al., 1974)이 주로 다루어져왔고, 더불어 Cd이 고환괴사(Powell et al., 1964; Gunn et al., 1966)와 동맥경화증이나 고혈압(Schroeder & vinton, 1962; Schroeder, 1965; Thindetal., 1970; Perry et al., 1976)등 심맥관계 질환 및 성장의 억제와 중추신경계 출혈(Cook et al., 1974), amyloidosis와 빈혈(Fox et al., 1971; Waalkes et al., 1988)등 인체내 여러 기관에 걸쳐 광범위하게 질병을 유발하는 독성물질로 밝혀지고, 더 나아가서는 발암물질로서 암을 일으키기도 하여 최기물질로서 선천성기형을 유발하기 때문에 이 분야의 연구도 활발히 진행되고 있다.

Hoffman et al.(1975)은 흰쥐 정맥내에 Cd(0.6 mg/100 g, bw)을 주사한 다음 간을 전자현미경으로 관찰한 결과 Cd 투여후 8시간대에 실험동물의 50%에서 초기병변이 나타났다고 하였다. 16시간대에서는 90~95%의 동물에서 간과 신장에서 병변이 야기됨을 관찰하였다고 보고하였다. 간의 경우, 조면소포체의 퇴화, 미토콘드리아의 퇴행성 변화가 관찰되었다고 하였다. Faeder et al.(1977)은 Cd을 각 농도별로 8주에 걸쳐 1주일에 3일씩 처치한 후 6주째에 간조직에서 조면소포체의 팽대가 관찰되었다고 보고하였다. Dudley et al.(1984)은 Cd(3.9 mg/kg, iv) 투여 1시간째

에 감소된 리보솜과 함께 조면소포체의 팽대, 핵소체의 응축과 염색질주위과립의 수적인 증가가 관찰되었다. 4시간째에는 미토콘드리아에서 기질과립과 구별되는 전자밀도가 높은 구조가 나타났으며, 균질한 섬유성 물질이 세포질에서 관찰되었다. 6시간대에는 조면소포체의 심각한 팽대와 소포형성, 조면소포체에서 리보솜이 분리, 미토콘드리아의 팽윤과 막내에 전자밀도가 높은 구조가 출현하였고, 핵의 내막과 외막사이공간의 팽윤 현상이 일어났다고 하였다. 10시간째에는 퇴행성 변화 즉, 핵의 농축, 응축된 핵소체와 응집된 염색질이 덩어리를 이루는 현상 및 미토콘드리아의 심한 팽윤이 나타났으며 대부분에서 어둡게 염색된 물질을 포함하고 있었다고 하였다.

본 실험에서도 카드뮴 단독투여군 1, 2일째에 핵막은 불규칙하였고, 미토콘드리아와 조면소포체의 내강 팽대와 리보솜 탈락이 관찰되었다. 그리고 3일째까지 조면소포체의 리보솜 탈락이 관찰되어 위의 결과들과는 시각적인 차이는 있지만 유사한 소견을 보였다.

Cantilena & kassaen (1981, 1982)은 방사성 Cd (1 mg/kg, iv)을 투여 후 diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA), 2, 3-dimercaptosuccinic acid (DMSA), EDTA를 시간대별로 투여한 결과, 72시간대의 처치보다 동시 처치시에 chelating의 효과가 더 큰 것으로 나타났고, 조직중의 Cd 농도에 있어서도 Cd 투여후에 동시 처치한 군에서 간과 신장을 포함한 대부분의 조직중 Cd 농도가 확실히 감소하였다고 하였다.

본 실험에서도 SQ와 카드뮴 병합투여군 1일째에서 핵막은 규칙적이었고, 미토콘드리아는 정상적인 소견을 보였으며 리보솜이 부착된 조면소포체가 관찰되었다. 그리고 3일째부터 전형적인 증판구조를 갖는 조면소포체가 관찰되어 위 실험의 결과와 일치된 소견을 보였다.

Tilvis & Miettinen (1980)은 인간의 지방조직은 특히하게도 SQ의 농도가 다른 포유동물에 비해 높게 나타나며 20%는 세포내에 부착된 microsome에 존재하며 microsome의 존재는 SQ가 막계 형성에 빠르게 작용한다고 보고하였다.

본 실험에서도 SQ와 카드뮴 병합투여군이 카드뮴 단독 투여군보다 훨씬 빠른 회복을 보인 것은 회복

시 microsome내의 SQ가 작용하여 막계 형성이 빠르게 진행되었다고 사료되며 이러한 점에서 Tilvis & Miettinen (1980)의 결과와 일치하였다.

Kim et al. (1997)은 SQ와 항암제 (Adriamycin)의 병용투여가 항암제에 의한 세포독성의 억제에 미치는 영향을 연구하여 항암제만을 투여한 후 24시간과 48시간대에 간세포의 세포소기관중 조면소포체의 수조가 매우 팽대되어 나타났으며, 미토콘드리아의 내·외막의 분리 및 파괴 현상을 관찰하였다. 한편 동시 투여군은 24시간에서 조면소포체의 수조가 매우 팽창되었고, 48시간에서는 조면소포체 수조의 팽대현상은 관찰되지 않았다고 하였다.

본 실험에서도 카드뮴 단독투여군에서 미토콘드리아는 내강 팽대와 cristae 파괴가 관찰되었고, 조면소포체의 내강 팽대와 리보솜 탈락이 나타났다. 그러나 SQ+카드뮴 병합투여군에서 미토콘드리아는 정상적인 소견을 보였으며 조면소포체의 증판구조 형성이 관찰되어 위 실험의 결과와 유사한 것으로 사료된다.

SOD는 hydrogen ion과 superoxide radical이 반응하여 과산화수소로 전환시키고 과산화수소는 catalase에 의해 물과 산소로 분해됨으로써 (Baud and Ardalliu, 1986), superoxide radical과 과산화수소 증가에 따른 조직손상은 방어하는 효과가 있고 (Frank and Massaro, 1980), 비정상적으로 증가하는 산소 유ри기의 제거를 위해 그 활성도가 높아지는 것으로 알려져 있다 (McCord and Fridovich, 1969).

Almeida et al. (2002)은 Nile tilapia에 0.35, 0.75, 1.5 그리고 3.0 mg/l로 카드뮴 농도를 달리하여 투여한 결과, 간에서 SOD의 활성도는 정상군이 143.1 ± 10.6 U/mg이었고, 실험군은 623.7 ± 7.0 , 562.2 ± 16.2 , 390.1 ± 13.8 , 264.0 ± 20.9 U/mg으로 정상군에 비해 증가되었다고 보고하였다. 본 실험에서도 Cd 단독 투여군은 5.71 ± 0.32 , 4.34 ± 0.18 , 3.99 ± 0.24 , 3.45 ± 0.27 U/mg으로 정상군의 1.52 ± 0.20 , 1.52 ± 0.43 , 1.52 ± 0.14 , 1.51 ± 0.05 U/mg에 비해 유의하게 증가되었고 ($P < 0.01$), SQ+Cd 병합투여군은 5.09 ± 0.34 , 4.04 ± 0.15 , 3.50 ± 0.17 , 3.32 ± 0.13 U/mg으로 Cd 단독투여군에 비해서는 약간 감소되어짐이 관찰되어 위의 결과와 유사한 소견을 보였다.

이처럼 SOD 활성도가 Cd 군에서 현저한 증가를 나타낸 것은 Gregory and Fridovich (1973)의 보고에서 SOD의 활성은 세포내 superoxide anion (O_2^-)과 같은 free radicals의 생성이 많을 때 증가된다고 지적했듯이 본 연구에서도 Cd가 세포내 superoxide anion (O_2^-)의 생성을 증가시켜 이에 대한 방어작용으로 SOD의 활성이 증가된 것으로 생각되어지며, SQ 투여로 Cd 투여에 의해 증가된 SOD 활성을 감소시켰으며, 이것은 SQ가 SOD의 역할을 대신한 것으로 사료된다.

이상의 결과는 SQ이 세포에 독성을 야기하는 Cd를 착화하여 간에서 다른 기관으로 이동시키거나, SQ가 SOD를 대신하여 free radical을 제거한 것으로 추측된다. 결과적으로 SQ이 Cd의 착화제로 작용하였다고 사료된다.

참 고 문 헌

- Almeida JA, Diniz YS, Marques SF, Faine LA, Ribas BO, Burneiko RC, Novelli EL: The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. *Environ Int.* 27(8): 673-679, 2002.
- Anderson O: Chelation of cadmium. *Environ. Health Perspect* 54: 249-266, 1984.
- Axelsson B, Dahlgren SE, Piscator M: Renal lesions in rabbit after long term exposure to cadmium. *Arch Environ Health* 17: 24-28, 1968.
- Baud L and Ardaillou, R: Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am. J. Physiol.* 251: F765-F776, 1986.
- Berlin M, Fredricsson B, Linge G: Bone marrow changes in chronic cadmium poisoning in rabbits. *Arch Environ Health* 3: 176-184, 1961.
- Budiarso IT: Fish oil versus olive oil. *Lancet* 336: 1313-1314, 1990.
- Cantilena JrLR, Klaassen CD: Decreased effectiveness of chelation therapy with time after acute cadmium poisoning. *Toxicol Appl Pharmacol* 63: 173-180, 1982.
- Cantilena LR, Klaassen CD: Comparison of the effectiveness of several chelators after a single administration on the toxicity, excretion and distribution of cadmium. *Toxicol Appl Pharmacol* 58: 452-460, 1981.
- Chiquoine AD: Observation on the early events of cadmium necrosis of the testis. *Anat Rec* 149: 23-26, 1964.
- Colucci V, Winge D, Krason J: Cadmium accumulation in rat liver. *Arch Environ Health* 30: 153-157, 1975.
- Cook JA, Marconi EA, Di Luzio NR: Lead, cadmium and endotoxin interaction: Effect on mortality and hepatic function. *Toxicol Appl Pharmacol* 28: 292-302, 1974.
- Desai KN, Wei H, Lamartiniere CA: The preventive and therapeutic potential of the squalene containing compound, Roindex, on tumor promotion and regression. *Cancer Lett* 101(1): 93-96, 1996.
- Dinn W, Frazier M: Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocytes. *Biochem J* 230: 395-402, 1985.
- Dudley RE, Svoboda DJ, Klaassen CD: Time course of cadmium induced ultrastructural changes in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 76: 150-160, 1984.
- Elinder CG, Kjellstrom T, Lind B, Linnman L, Piscator M, Sundstedt K: Cadmium exposure from smoking cigarettes: Variations with time and country where purchased. *Environ Res* 32: 473-487, 1977.
- Fassett DW: Cadmium: Biological effect and occurrence in the environment. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 15: 425-435, 1975.
- Fox MRS, Fry BEJr, Harland BA, Schertel ME, Weeks CE: Effect of ascorbic acid on cadmium toxicity in the young coturnix. *J Nutr* 101: 1295-1306, 1971.
- Frank L, Massaro D: Oxygen toxicity. *Am J Med* 69(1): 117-126, 1980.
- Frazier JM, Puglese J: Dose dependence of cadmium kinetics in the rat liver following intravenous injection. *Toxicol Appl Pharmacol* 43: 461-474, 1978.
- Goering PL, Klaassen CD: Altered subcellular distribution of cadmium following cadmium pretreatment: Possible mechanism of tolerance to cadmium induced lethality. *Toxicol Appl Pharmacol* 70: 195-203, 1983.
- Gregory EM, Fridovich I: Induction of superoxide dismutase by molecular oxygen. *JBacteriol* 114(2): 543-548, 1973.
- Gunn SA, Gould TC, Anderson WAD: Protective effect of thiol compounds against cadmium induced vascular damage to testis. *Proc Soc Exp Biol Med* 122: 1036-1039, 1966.
- Ho YS, Crapo JD: Isolation and characterization of comple-

- mentary DNAs encoding human manganese containing superoxide dismutase. FEBS Lett 229(2): 256-260, 1988.
- Hoffman EO, Cook JA, Di Luzio NR, Coover JA: The effect of acute cadmium administration in the liver and kidney of the rat. Lab invest 32(5): 655-664, 1975.
- Itokawa Y, Aberg T: Bone changes in experimental chronic cadmium poisoning. Arch Environ Health 26:241-244, 1973.
- Klaassen CD: Effect of metallothionein on hepatic disposition of metals. Am J Physiol 234(1): E47-E53, 1978.
- Klassen Cd, Wong KL: Cadmium toxicity in the newborn rat. Can J Physiol Pharmacol 60: 1027-1036, 1981.
- Kostas DS, Shackelford JE, Shechter I, Jing G, Conrad D, Keller GA, Krisans SK: Subcellular localization of squalene synthase in rat hepatic cells. J Biol Chem 268(17): 12825-12836, 1993.
- Lee YO, Cha CW, Rhim KH: A study on the effect of garlic, D penicillamine and N acetyl DL penicillamine against cadmium poisoning in rat. Korea Univ Med J 23(3): 43-52, 1986. (Korean)
- Lewis GP, Jusko WJ, Coughlin LL, Hartz S: contribution of cigarette smoking to cadmium accumulation in man. Lancet 1: 291-292, 1972.
- Liu GCK, Ahrens JrEH, Sreibman PH, Crouse JR: Measurement of squalene in human tissues and plasma. J Lipid Res 17(1): 38-45, 1976.
- Mann T, Kellin D: Haemocuprein and heterocuprein, copper protein compounds of blood and liver in mammals. Proc R Soc London Ser 128: 303-315, 1939.
- McCord JM and Fridovich I: Superoxide dismutase: An enzyme function for erythrocuprein (haemocuprein). J Biol Chem 244(22): 6049-6055, 1969.
- McTaggart F, Brown GR, Davidson RG, Freeman S, Holdgate GA, Mallion KB, Mirres DJ, Smith GJ, Ward WH: Inhibition of squalene synthase of rat liver by novel 3'-substituted equimulidines. Biochem Pharmacol 51(11): 1477-1478, 1996.
- Moreau T, Iellouch J, Juguet B, Festy B, Oressaud G, Claude JR: Blood cadmium levels in a general male population with special reference to smoking. Arch Environ Health 38(3): 163-167, 1983.
- Ohm HT, Song DB, Cha CW: A study on the protective effect of garlic, DMSA and BAL to cadmium poisoning in rat. Korea Univ Med J 23(1): 109-118, 1986. (Korean)
- Palamarchuk VI: Characteristics of the radiation induced changes in the content of sterols and squalene on the lymphoid system tissues and erythrocyte of rats. Radiobiologia 30(3): 321-327, 1990.
- Parizek J, Zahor Z: Effect of cadmium salts on testicular tissue. Nature 177: 1036-1037, 1956.
- Perry HM Jr, Yunico A: Acute pressor effects of intra-arterial cadmium and mercuric ions in anesthetized rats. Proc Soc Exp Biol Med 120: 805-808, 1965.
- Perry HM Jr, Thind GS, Perry EF: The biology of cadmium. Med Clin North Am 60: 759-769, 1976.
- Piscator M: Proteinuria in chronic cadmium poisoning. In An electrophoretic and immunoelectrophoretic studies on urinary proteins from cadmium workers, with special reference to the excretion of low molecular weight proteins. Arch Environ Health 12: 335-344, 1966.
- Powell GW, Miller WJ, Morton JD, Clifton CM: Influence of dietary cadmium level and supplemental zinc on cadmium toxicity in the bovine. J Nutr 84: 205-214, 1964.
- Reynolds ES: The use of citrate at high pH and an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 17: 208-213, 1963.
- Saint Leger D, Bague A, Cohen E, Chivot M: A possible role for squalene in the pathogenesis of acne. Brit J Dermatol 114: 535-542, 1986.
- Schroeder HA: Cadmium as a factor in hypertension. J Chron Dis 18: 647-656, 1965.
- Shaikh ZA, Lucis OJ: Cadmium and zinc binding in mammalian liver and kidneys. Arch Environ Health 24: 419-425, 1972.
- Shukla GS, Singhal RL: The present status of biological effects of toxic metals in the environment: lead, cadmium and manganese. Can J Physiol Pharmacol 62: 1015-1031, 1984.
- Stowe HD, Wilson M, Goyer RA: Clinical and morphologic effect of oral cadmium toxicity in rabbits. Arch pathol 94: 389-405, 1972.
- Stranberg TE, Tilvis RS, Miettinen TA: Metabolic variables of cholesterol during squalene feeding in humans: comparison with cholestyramine treatment. J Lipids Res 31(9): 1637-1643, 1990.
- Strom HM, Oh SY, Kuner BF, Norton S: Radioprotection of mice by dietary squalene. Lipids 28(6): 555-559, 1993.
- Suzuki Y, Yoshikawa H: Effects of cadmium injection on

- Intracellular distribution of essential metals in rat liver. *Ind Health* 10:93-106, 1972.
- Takenaka S, Oldiges H, Konig H, Hochrainer D, Oberdorster G: Carcinogenicity of cadmium chloride aerosols in Wistar rats. *JNCL* 70:367-373, 1983.
- Teare FW, Read PR, Pyttel RB, Jasansky PA: Short and long term cadmium distribution in rat livers after different routes of administration. *Arch Environ Health* 33:53-58, 1978.
- Thind GS, Karreman G, Stephan KF et al.: Vascular reactivity and mechanical properties of normal and cadmium hypertensive rabbits. *J Lab Clin Med* 76:560-568, 1970.
- Tilvis RS, Miettinen TA: Dietary squalene increase tissue sterols and fecal bile acid in the rat. *Lipids* 18:32-36, 1983.
- Tilvis RS, Miettinen TA: Squalene, methysterol, and cholesterol levels in human organs. *Arch Pathol Lab Med* 104:35-40, 1980.
- Waalkes MP, Rehm S, Riggs CW, Bare RM, Dever DE, Poirier LA, Wenk ML, Henneman Jr, Balaschak MS: Cadmium carcinogenesis in mice Wistar [Cr: (WI)BR] rats: Dose response analysis of tumor induction in the prostate and testes and at the injection site. *Cancer Research* 48:4566-4663, 1988.
- Webster WS: Cadmium induced fetal growth retardation in the mouse. *Arch Environ Health* 33:36-42, 1978.

< 국문초록 >

CdCl₂이 간에 미치는 독성에 관한 Squalene의 효과를 알아보기 위하여 30 mg 내외의 음성 ICR계 mouse에 체중 kg당 5.0 mg의 CdCl₂와 체중 kg당 180.0 mg의 SQ를 복강투여하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7일째에 절취한 간조직을 SOD 활성도와 투과전자현미경법을 이용하여 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 간조직에서 SOD 활성도는 Group A가 정상군에 비해 증가를 보였고, Group B는 Group A에 비해 약간의 감소를 나타내었다. 조직학적 관찰에서 Group A의 핵은 불규칙한 모양이 관찰되었고, 미토콘드리아의 내강 팽대와 cristae 파괴가 나타났으며, 조면소포체의 수조 팽대가 관찰되었다. Group B의 핵은 원형을 나타내었으며 미토콘드리아는 약간 팽대되었지만 정상적인 형태를 보였고, 조면소포체의 전형적인 층판구조가 관찰되었다.

이상의 결과를 종합하면 SQ 처치가 SOD 활성을 감소시키고 mouse 간세포에 미치는 카드뮴의 독성을 감소시켜 간세포의 회복에 효과가 있는 것으로 사료된다.

FIGURE LEGENDS

* Abbreviations

Mitochondria(M)
Glycogen(G)

Nucleus(N)

* Each scale bar on the figures equals 1 μ m.

Fig. 1. Electron micrograph of hepatic cell from normal mouse. Rough endoplasmic reticulum (➡).

Fig. 2. Electron micrograph of hepatic cell from 1 day CdCl₂ treated group.

Fig. 3. Electron micrograph of hepatic cell from 1 day CdCl₂ and squalene treated group.

Fig. 4. Electron micrograph of hepatic cell from 2 day CdCl₂ treated group.

Fig. 5. Electron micrograph of hepatic cell from 2 day CdCl₂ and squalene treated group.

Fig. 6. Electron micrograph of hepatic cell from 3 day CdCl₂ treated group.

Fig. 7. Electron micrograph of hepatic cell from 3 day CdCl₂ and squalene treated group.

Fig. 8. Electron micrograph of hepatic cell from 4 day CdCl₂ treated group.

Fig. 9. Electron micrograph of hepatic cell from 4 day CdCl₂ and squalene treated group.

Fig. 10. Electron micrograph of hepatic cell from 5 day CdCl₂ treated group.

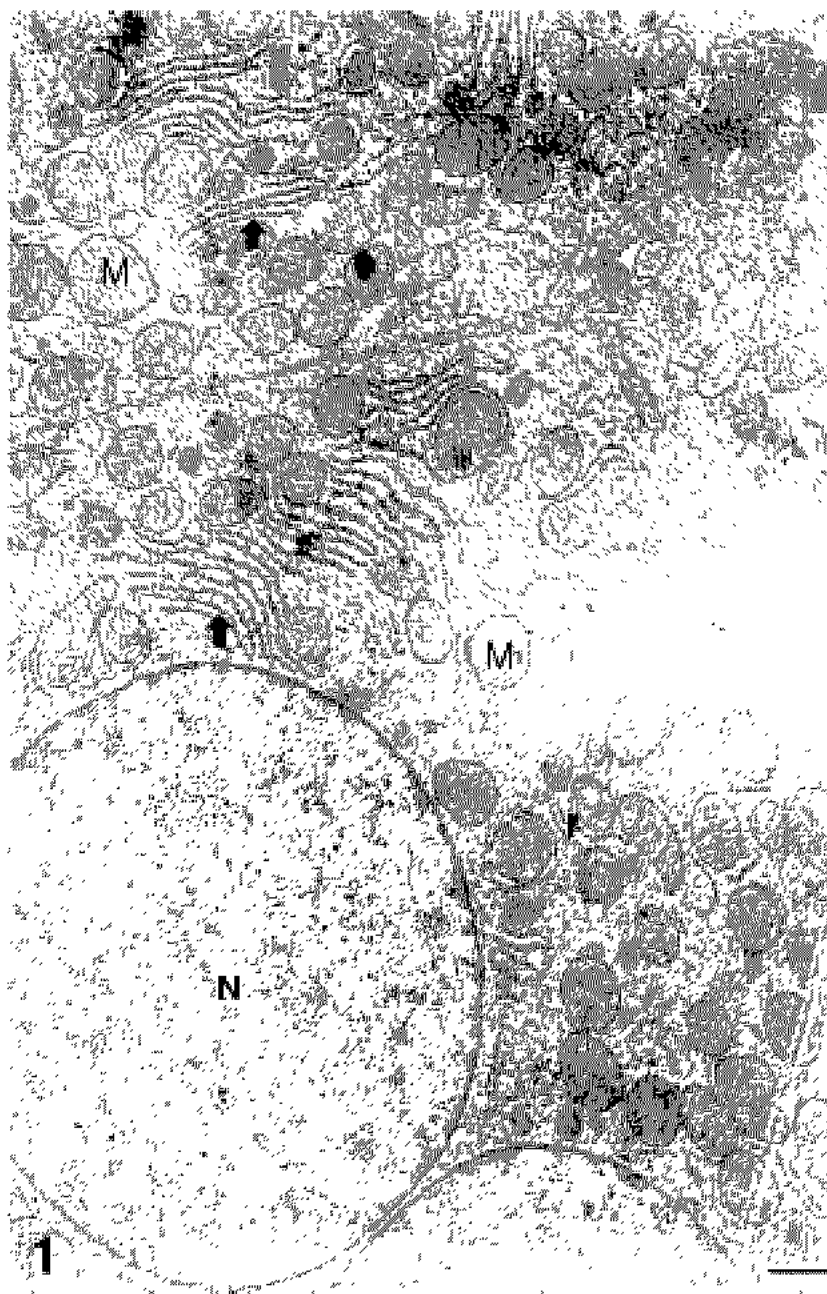
Fig. 11. Electron micrograph of hepatic cell from 5 day CdCl₂ and squalene treated group.

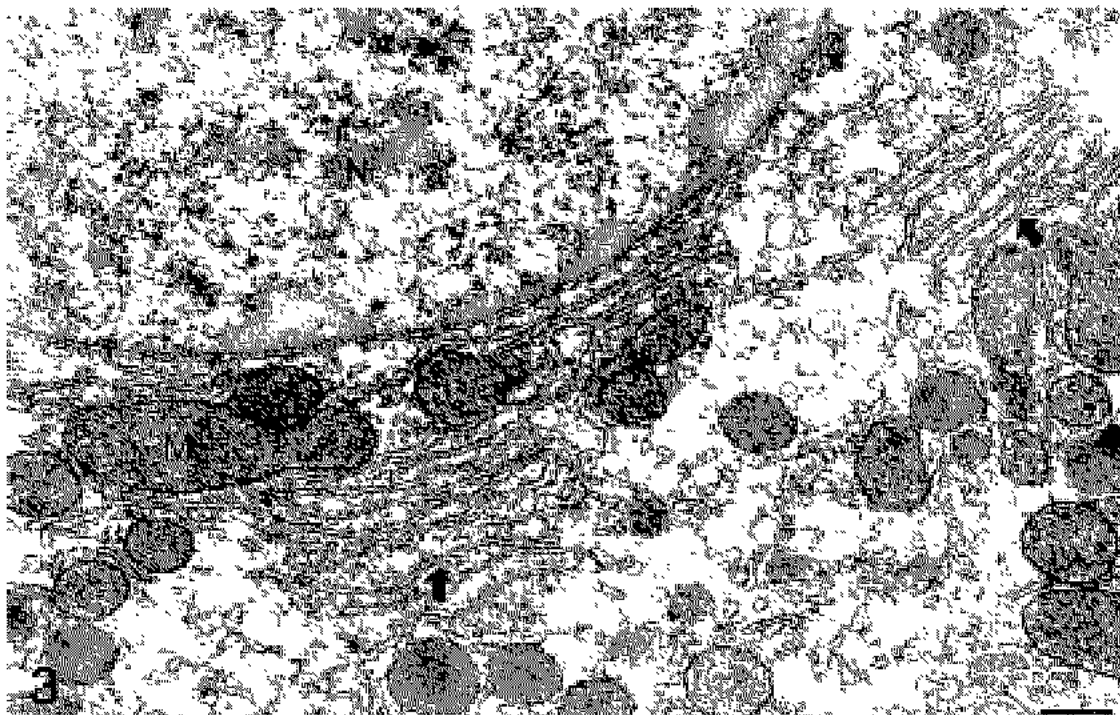
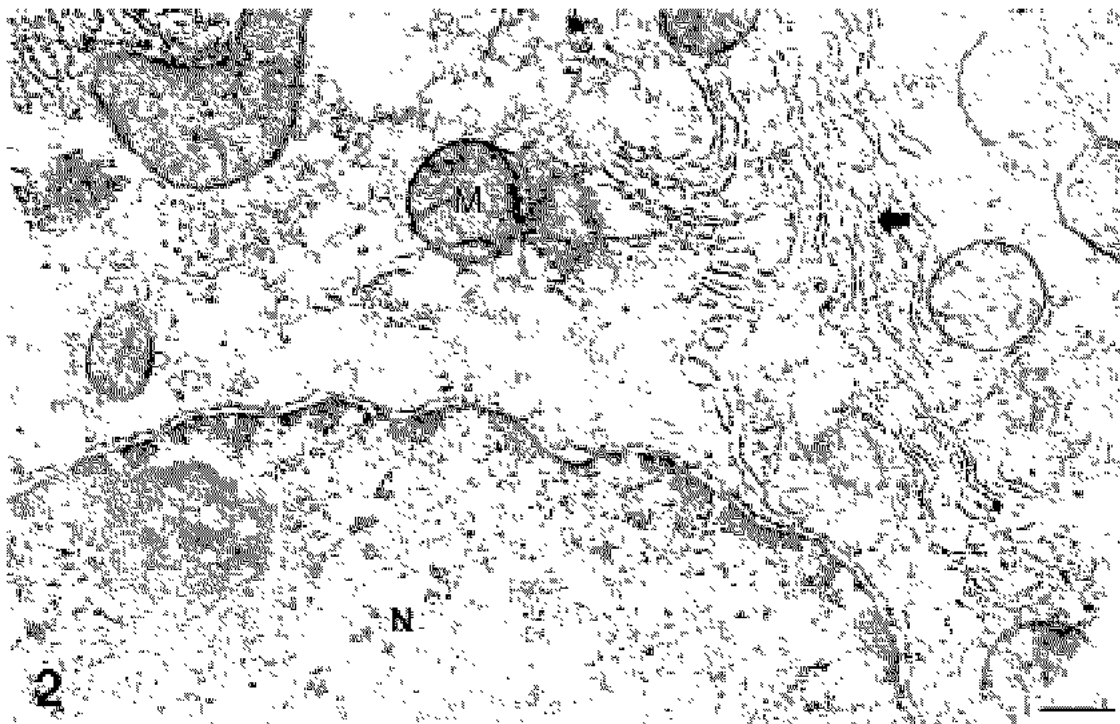
Fig. 12. Electron micrograph of hepatic cell from 6 day CdCl₂ treated group.

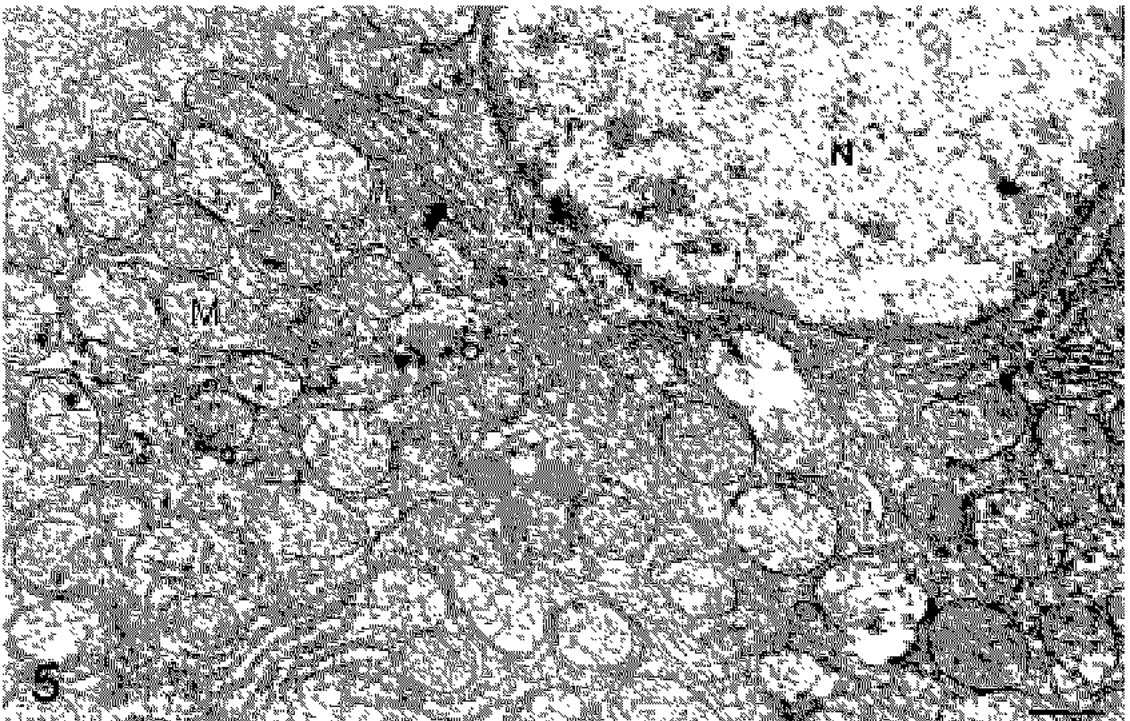
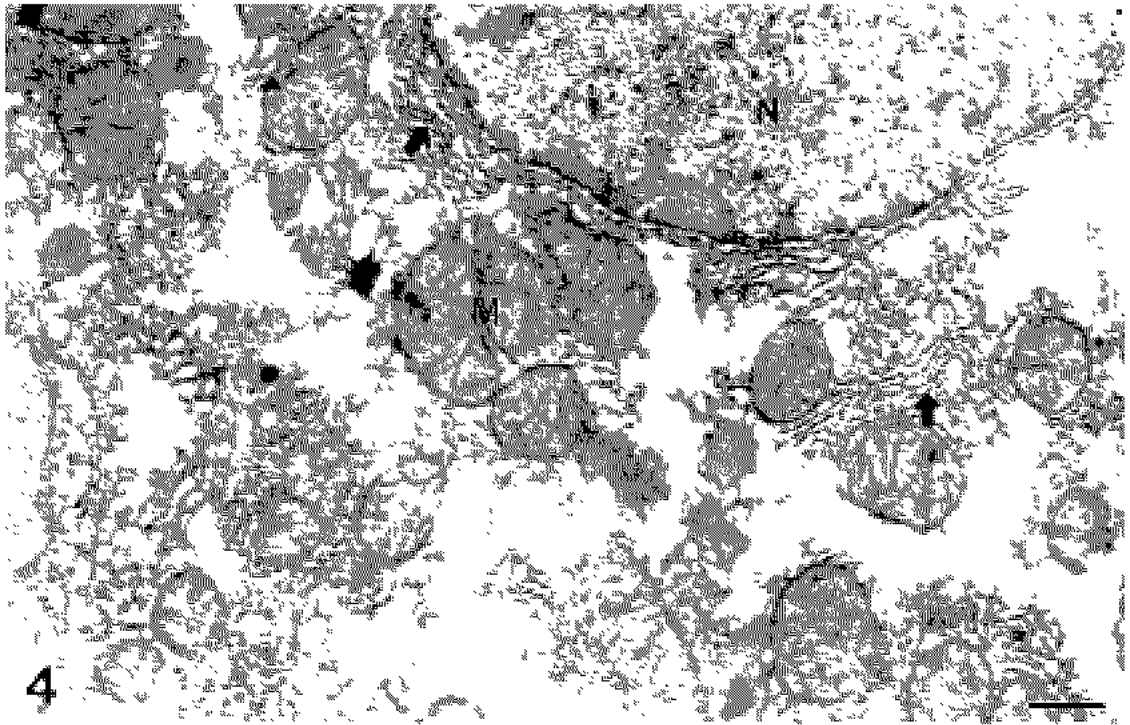
Fig. 13. Electron micrograph of hepatic cell from 6 day CdCl₂ and squalene treated group.

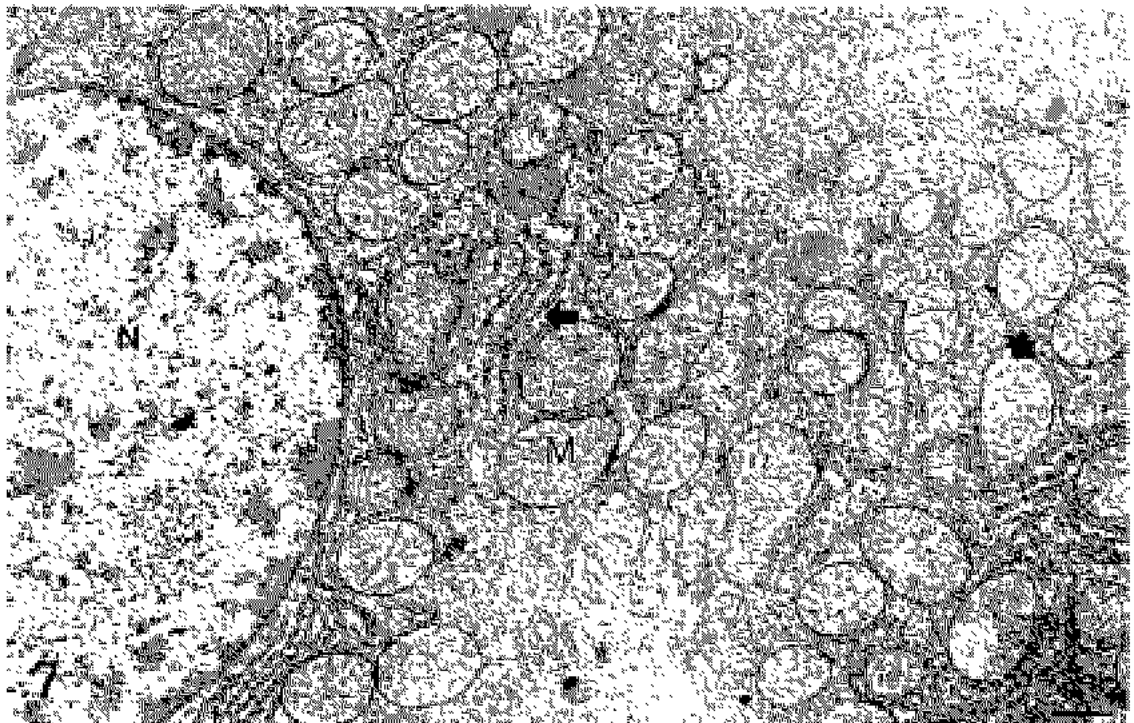
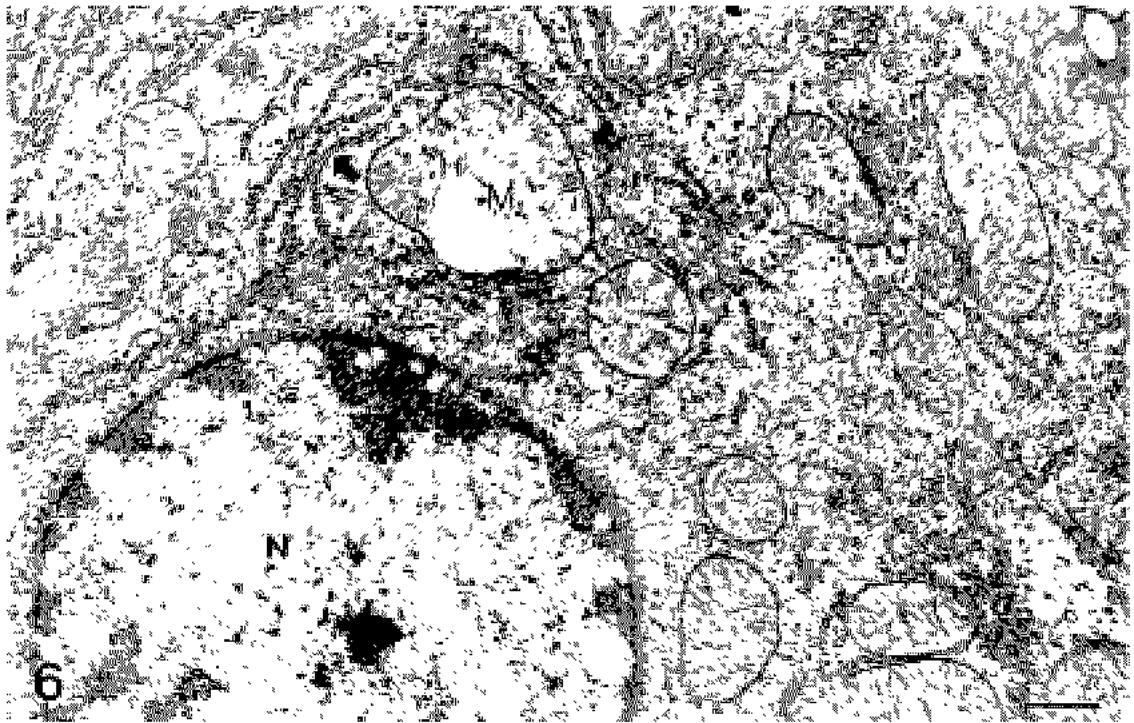
Fig. 14. Electron micrograph of hepatic cell from 7 day CdCl₂ treated group.

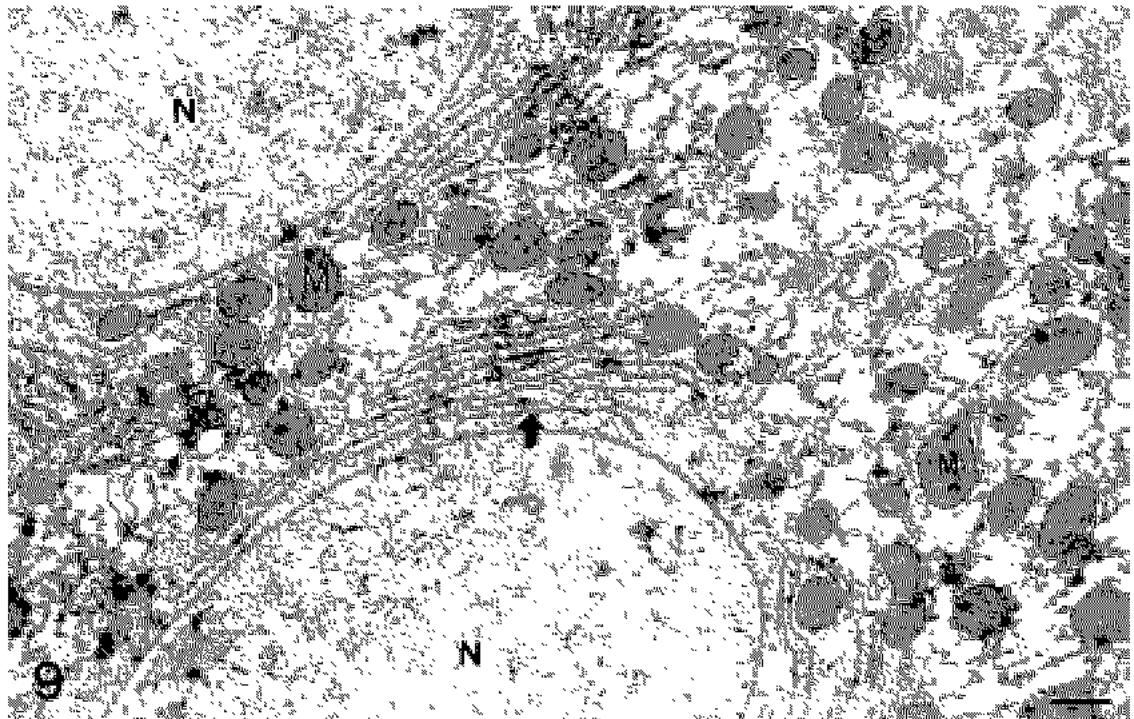
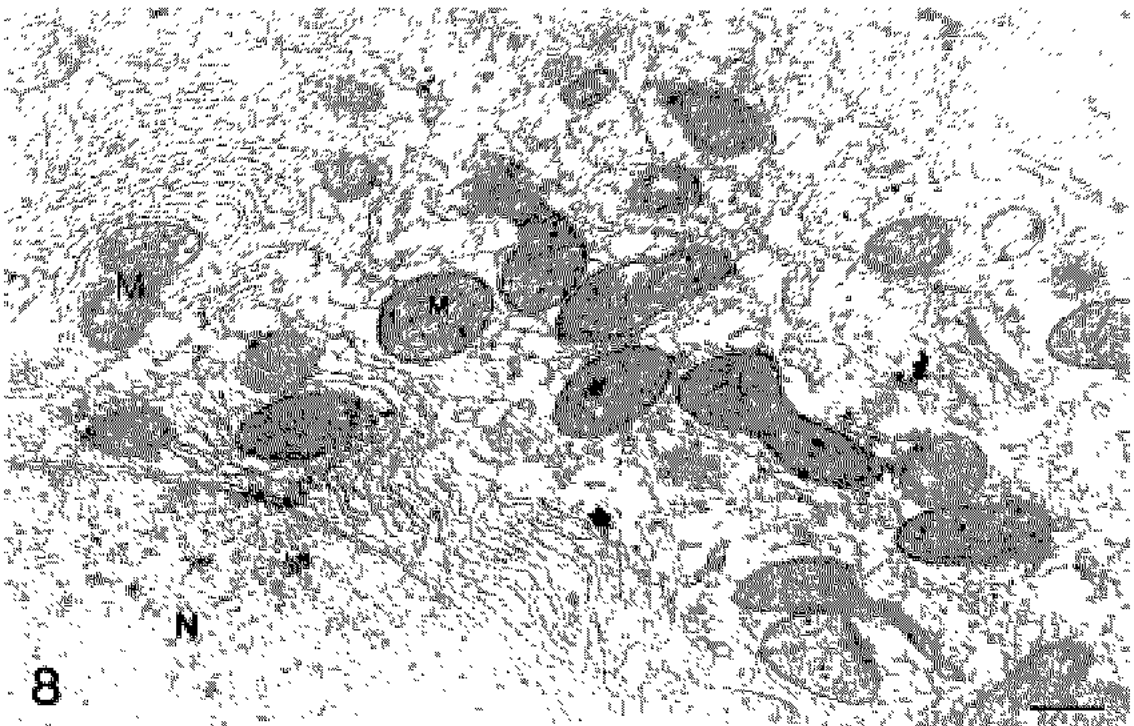
Fig. 15. Electron micrograph of hepatic cell from 7 day CdCl₂ and squalene treated group.

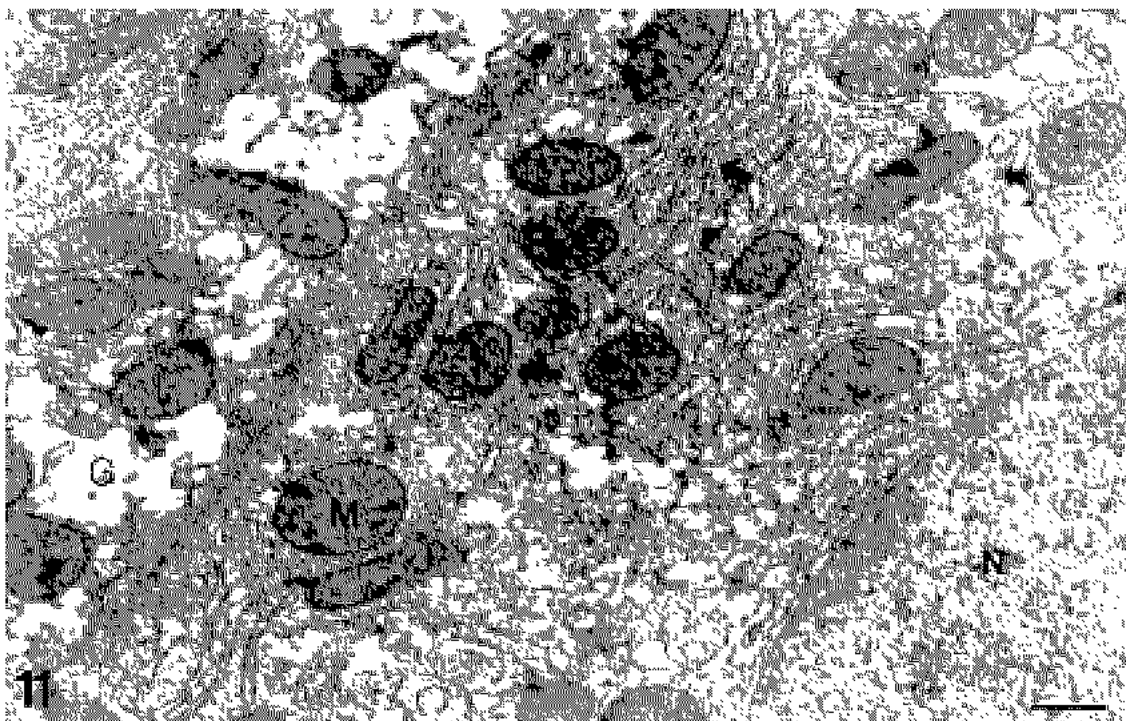
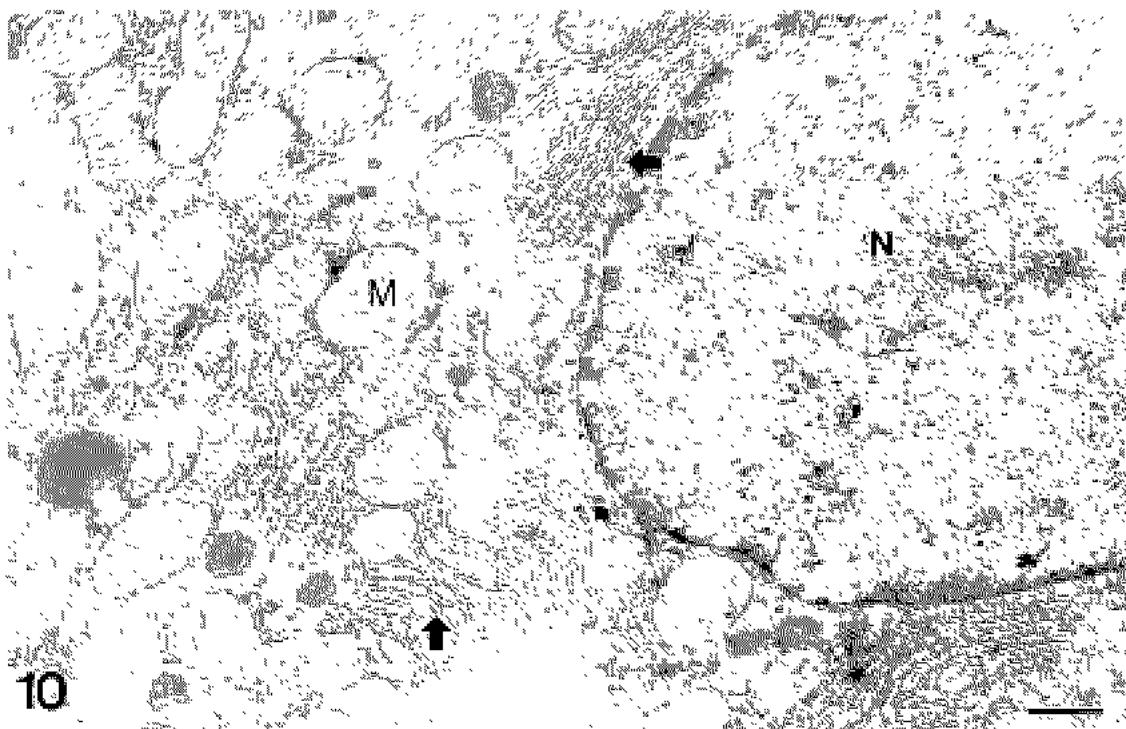


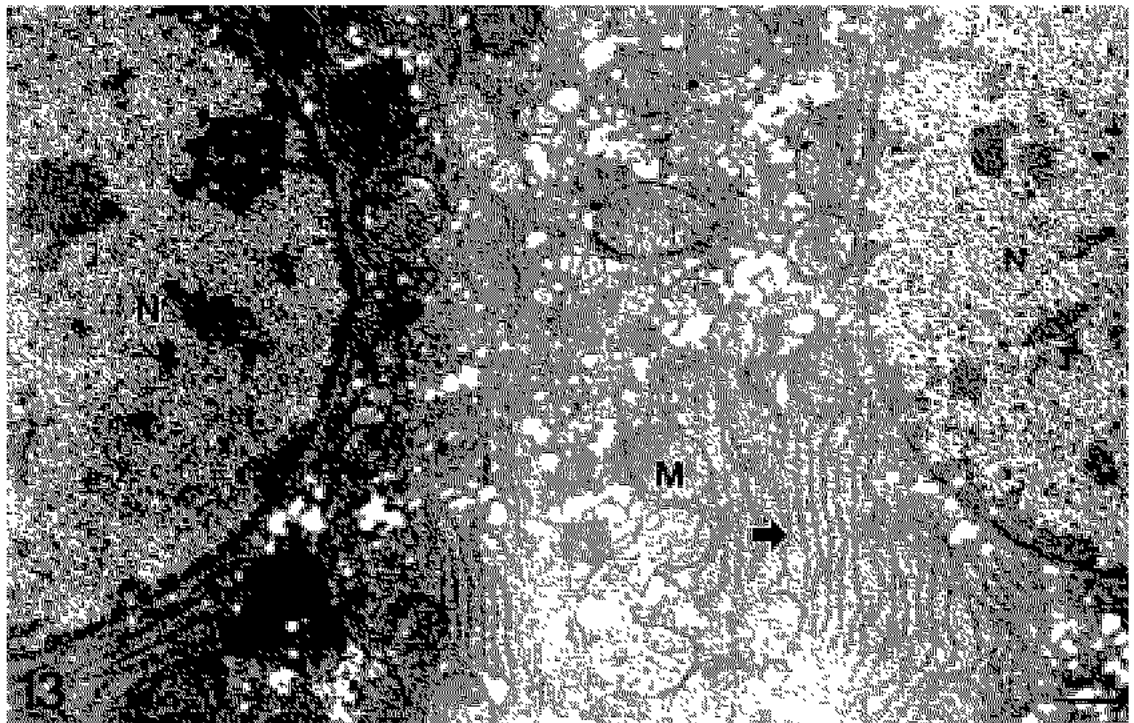
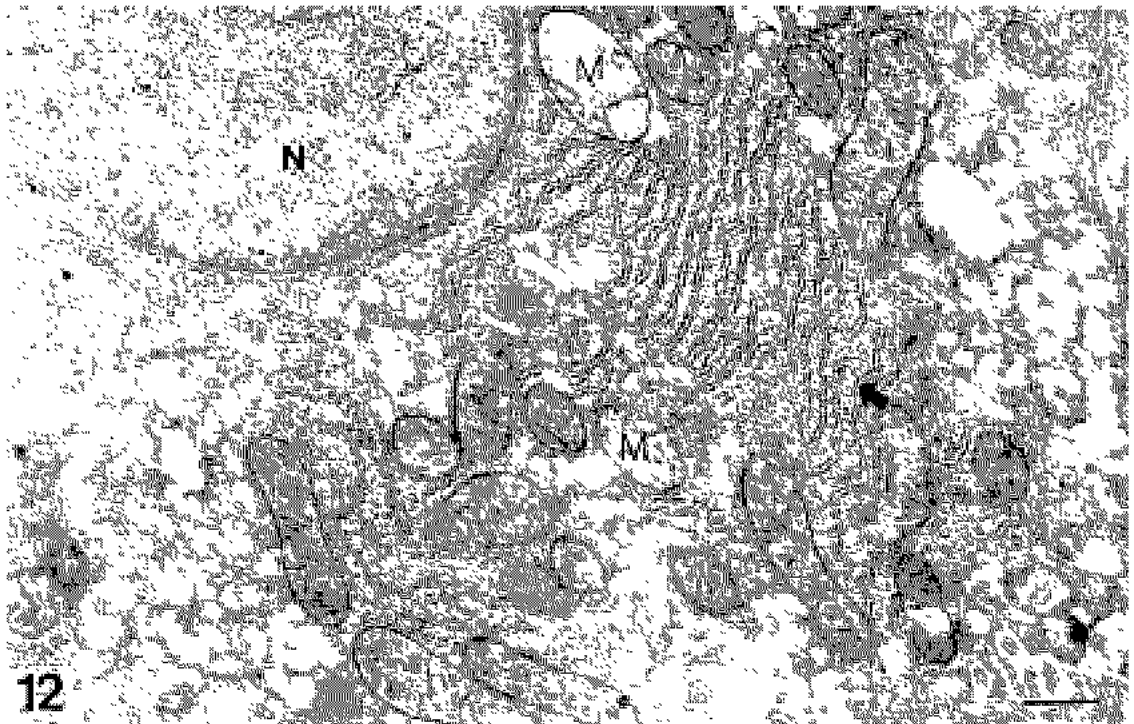


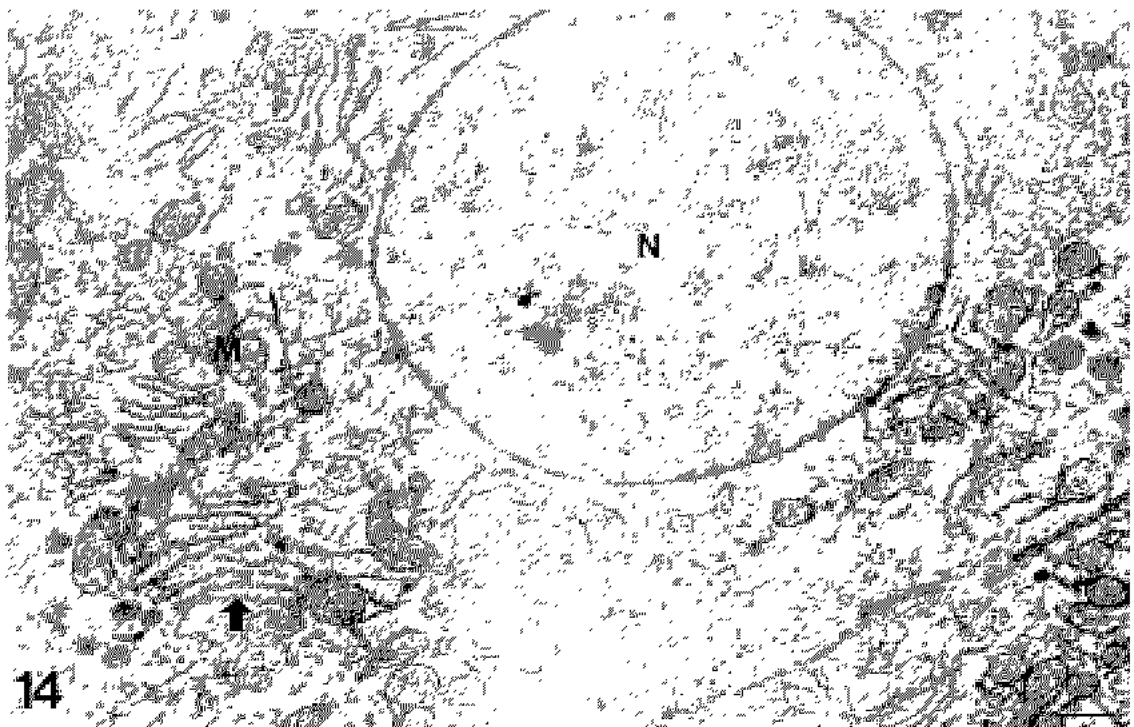




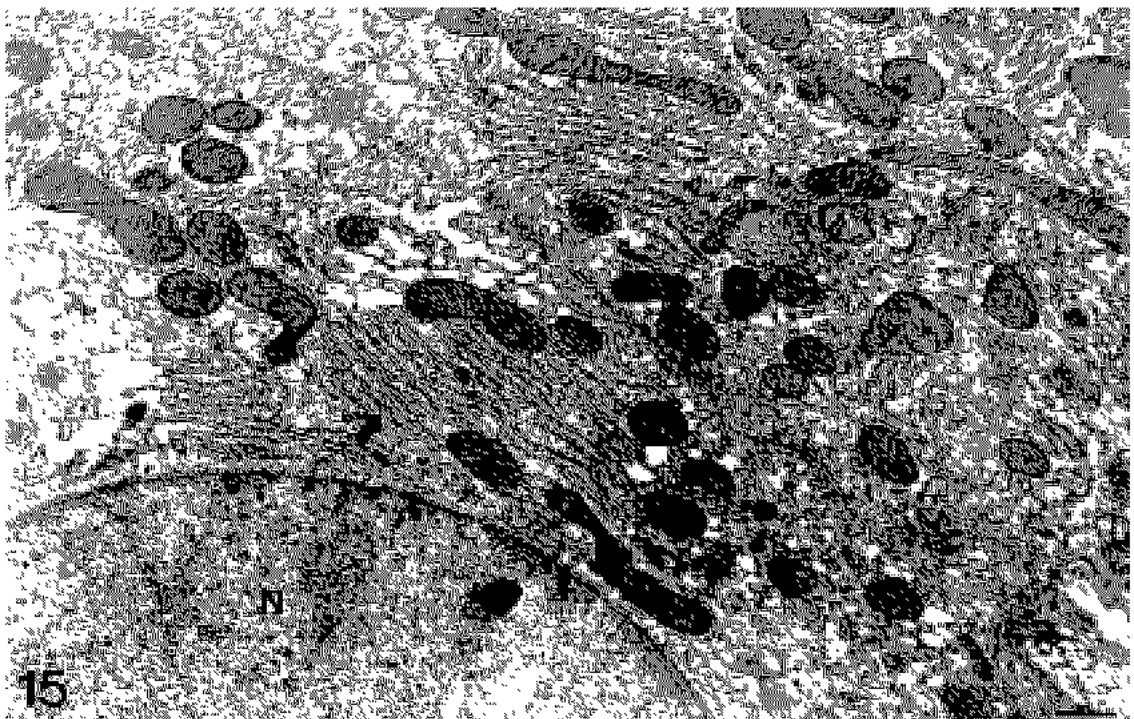








14



15