

미성숙 웅성 흰쥐를 이용한 이온화 방사선 조사 및 저농도 염화수은 (II)의 음용에 따른 위해성 비교 평가

김 지 향^{1,2} · 김 진 규^{1*} · 윤 용 달²

¹한국원자력연구소, ²한양대학교 생명과학과

Evaluation of Biological Effects of Low Concentrations of Mercury Chloride (II) and Ionizing Radiation in the Prepubertal Male Rats

Ji Hyang Kim^{1,2}, Jin Kyu Kim^{1*} and Yong Dal Yoon²

¹Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353, Korea

²Department of Life Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

Abstracts - Mercury, one of the most diffused and hazardous organ-specific environmental contaminants, exists in a wide variety of physical and chemical states. The mercury with the nature which evaporates easily can cause an acute or chronic mercury poisoning to workers at mercury-handling workplaces. Although many studies indicate that mercury induces a deleterious damage, little has been reported from the investigations of mercury effects at surrounding levels in living things. The purpose of this study was to evaluate the biological effects of mercury chloride and ionizing radiation. Prepubertal male F344 rats were administered mercury chloride in drinking water throughout the experimental period or were given wholebody irradiation with a dose of 6.5 Gy. The amount changed of body weight during the experimental period showed a 4.9% rise in the mercury-treated group and 14.4% decline in the irradiated group compared with the level of the control group. The results of hematological analysis (red blood cells, white blood cells, hemoglobin, and hematocrit) indicated the differential effects of mercury chloride and ionizing radiation. However the concentration of cortisol as assessed by radioimmunoassay increased in both of the groups. Relative expressions of mRNA related to mitochondrion-mediated apoptosis were investigated using semiquantitative reverse transcription polymerase chain reaction on gonad and urinary organs of the experimental groups. While the expression of Bcl-2 mRNA exhibited different patterns depending on the organs or the experimental groups, both of the experimental groups showed a conspicuous expressions of Bax mRNA. In conclusion, the target organ of mercury chloride seems to be a urinary organ and the pattern of damage induced by mercury chloride differs from that by ionizing radiation.

Key words : mercury chloride (II), ionizing radiation, rat, male

* Corresponding author: Jin Kyu Kim, Tel. 042-868-2057,
Fax. 042-868-2091, E-mail. jkkim@kaeri.re.kr

서 론

폭발적인 인구의 증가와 그에 따라 공업화·산업화의 결과로서 생태계는 계속적으로 오염되고 있으며, 인류는 수많은 오염원에 노출되어 있다. 이 중 산업상의 직접 사용에 의해 파급되는 중금속의 오염은 토양뿐만 아니라 대기와 수계에까지 널리 확산되어 인간을 비롯한 생물의 삶에도 영향을 주고 있다. 자연계에서 수은의 분포는 다양하게 나타나며, 토양의 경우 약 10~150 ppb, 대기 중에 0.01~0.02 μgm^{-3} , 담수의 경우 평균 0.03 ppb, 해수에는 0.1 ppb 정도 존재하는 것으로 보고된 바 있다. 우리나라 논토양에서 자연 함유량을 조사한 결과는 평균 0.09 ppm에 이른다(국립환경연구원 1988). 수은을 통한 오염은 대기 오염을 통한 빗물이나 강물의 오염 등으로 생물을 비롯한 인간에서 영향을 줄 수 있으며, 수은을 포함한 천연연료의 연소, 자동차 매연, 쓰레기 소각, 그리고 공업화와 산업화에 따른 방출에 의해 생태계는 지속적으로 오염되고 있다. 이러한 수은에 대한 독성 연구도 다양하게 이루어지고 있으며, 수은에 화학적 형상에 따라 각각적으로 접근되고 있다. 무기수은, 메틸수은, 염화수은 등 수은의 화학적 분류에 따라 그 증상도 다양하게 나타나고 있으며, 주로 신경장애, 신장 및 간 기능의 손상 등을 대표적으로 일으킨다(Emanuelli *et al.* 1996). 호흡기로 흡수되는 수은 증기는 대부분 체내에서 빠른 속도로 2가의 수은으로 산화되어 혈청 알부민, 적혈구의 헤모글로빈과 결합하게 되며, 그 분포 및 배설양식은 경구로 흡수된 수은과 같게 된다. 그러나 일부는 금속 수은 상태로 혈중을 흐르다가 뇌혈액 관문을 통과하게 되어 뇌에 치명적인 손상을 일으키게 된다(Gochfeld 2003). 무기수은의 장관흡수율은 5% 정도로 낮은 편이나 전신에서의 생물학적 반감기는 29~60일이며, 신장에서는 반감기가 더 길다. 그러나 메틸수은의 경우는 장관흡수율이 90% 이상이며 거의 대부분 흡수되며, 흡수된 메틸수은의 10%는 뇌에 축적된다고 알려져 있다(Boening 2000). 이미 일본이나 이란에서는 수은에 의한 오염이 인체로 전달되어, 큰 문제를 일으킨 적이 있다(Igata 1993).

수은에 의한 동물 실험은 고농도의 독성학적 접근 위주로 이루어져 다양하게 진행 되었으나, 염화수은을 경구 투여 하였을 때 생쥐에서 반수치사량(LD₅₀) 농도는 30~35 mg kg⁻¹으로 환경적으로 인간이 일상적으로 접하는 농도와는 상당한 차이를 보인다(Emanuelli *et al.* 1996; Diamond and Zalups 1998; Gochfeld 2003).

반면 이온화 방사선과 관련해서는 여러 실험을 통해 면역기관, 생식기관에 미치는 영향 등 다양한 범위에 폭

넓은 접근이 이루어지고 있다(Takahashi 2002; Thorne 2003; Uma 2003). 이온화 방사선에 대한 연구를 토대로 하여 중금속의 영향을 비교함으로써 수은의 영향을 다각적으로 이해할 수 있을 것이다. 이것은 수은의 환경유입 증가에 인한 중금속 오염의 증가 뿐 아니라 특정분야 근로자들의 직업적 노출이 증가되고 있는 시점에서 저농도 수은의 경구노출에 따른 생물학적 손상의 특성파악과 이온화 방사선에 의한 생체 손상과의 비교 자료를 얻기 위해서 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 처리

본 실험에 사용된 동물, 처리, 시료의 채취 등은 앞서 기보고 된 논문을 바탕으로 수행하였다(Kim *et al.* 2004). 생후 4주령의 수컷 F344 흰쥐(Daehan Biolink, Chungbuk)를 사용하였다. 한국원자력연구소 내의 사육실에서 고형 사료와 물을 충분히 공급한 상태로 10/14시간(명/암)의 조명 조건 하에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

이온화 방사선 처리군은 한국원자력연구소의 감마선 발생장치(Panoramic Irradiator, Atomic Energy of Canada Ltd.)를 이용하여 조사하였다(Kim *et al.* 2003). 조사 선량은 선량-반응식을 기준으로 단기간 내에 손상이 확인된 선량을 조사하였다(Lee *et al.* 2000). ⁶⁰Co 선원의 강도는 약 150 TBq, Fricke dosimeter로 측정된 선량율은 12.82 Gy hour⁻¹이며, 30분간 조사하였다. 수은 처리군의 경우에는 음용수에 1 mg kg⁻¹의 농도로 염화수은(II)을 2주간 처리하였다. 2주간의 처리 후 혈액과 조직을 채취하여 항목별 평가를 수행하였다.

2. 혈액내 주요 인자의 수준 확인

실험 동물 혈액을 채취하여 일반 혈액학 검사를 위해서 항응고제(EDTA, Sigma, USA)를 처리한 후 hemoglobin(Hb), hematocrit(HCT), red blood cell(RBC), WBC(white blood cell), Platelet, MCV(평균 적혈구 용적), MCH(평균 적혈구 혈색소량), MCHC(평균 적혈구 혈색소농도) 수준을 알아보았다. 각 세포계수기를 이용하여 검사하였다. 혈액내 일반적인 화학 검사를 시행하여, total protein, albumin, A/G ratio, creatine, cholesterol, BUN(blood urea nitrogen), chloride, inorganic phosphorus, calcium, 그리고 혈청내 생화학적 구성물인 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase

(GPT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH)의 수준을 확인하였다. 검사는 각각 ALT reagents (Bayer, USA)로 GOT와 GPT 분석에 사용하였고, LDH는 lactate dehydrogenase (P-L kit, Bayer, USA), ALP는 alkaline phosphate reagents (Bayer, USA)를 사용하여 kinetic UV method와 enzymatic method 반응을 통해 ADVIA 1650 (Bayer, Japan)로 분석하였다 (Fukuda *et al.* 2004).

3. 혈액내 cortisol 농도 분석

혈액내 cortisol의 농도를 분석하기 위해, 채혈 후 일부를 상온에서 30분간 응고 시켰다. 직후 4°C에서 3,000×g에서 원심분리 하여, 혈청을 얻었다. 각 혈청 중 25 µL를 취하여, 호르몬 정량을 수행하였다 (DSL system, USA). 분석을 위한 시료의 측정은 gamma counter (Wallac system, Finland)를 사용 하였다.

4. Total RNA 추출

정소와 신장의 total RNA를 추출하기 위해 각 조직 0.1 g 당 Trizol (Invitrogen Corp.) 1 mL을 넣고 homogenizer로 균질화 시켰다. 균질화 된 현탁액에 0.2 mL의 chloroform을 넣어 혼합시킨 후 원심분리기를 이용하여 12,000×g로 15분간 4°C를 유지하면서 원심분리 하였다. 원심분리 후 핵산을 보유하고 있는 상층부의 무색 수용액을 취하여 동량의 isopropanol로 침전시켰다. 영하 20°C에서 12시간 침전시킨 후 12,000×g, 15분간 4°C에서 원심분리 하였다. 상층액을 버린 후 75% ethanol을 이용하여 세척하여 7,500×g, 5분간 원심분리 하였다. 세척 후 진공상태에서 10분간 건조시킨 후 diethyl pyrocarbonate (DEPC, Sigma-Aldrich)를 처리한 증류수나 nuclease free water (Promega, USA)에 용해시켜, 55°C에서 20분간 녹인 후, 일부를 spectrophotometer를 이용하여 RNA를 정량 하였다. 이 후 단계 수행까지 초저온 냉동고에 보관하였다.

5. 세포자연사 증대 분자의 역전사 중합효소 연쇄 반응

세포자연사에 관여하는 여러 분자들 중에서 미토콘드리아에 관련한 Bcl-2/Bax mRNA 발현 변화를 알아보기 위해 역전사 중합효소 연쇄 반응(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)을 수행하였다. Complementary DNA library를 만들기 위해서 각각의 RNA 1 µg을 10 pM oligodT 15 primer (Promega, USA), RNase inhibitor (40 U µL⁻¹, Promega, USA), 2.5 mM dNTP (Takara, Japan), AMV RT reaction buffer (5×,

Promega, USA), AMV reverse-transcriptase (10 U µL⁻¹, Promega, USA)를 포함하는 반응액 속에서 70분 동안 42°C에서 반응시켰다 (Thermal cycler 480, Takara). 제조가 끝난 cDNA는 다음 PCR을 수행할 때까지 -20°C에 보관하였다.

RNA 추출 및 역전사가 제대로 수행되었는지를 확인하기 위해서 house keeping gene으로 알려진 glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 먼저 PCR로 증폭하였다. GAPDH의 forward primer sequence는 5'-CCC TCA AGA TTG TCA GCA ATG C-3', reverse primer sequence는 5'-GTC CTC AGT GTA GCC CAG GAT-3'을 제조하여 사용하였고, PCR 산물의 크기는 410 bp 이다 (Horikoshi and Sakakibara 2000). Thin wall tube에 동일 양의 cDNA, MgCl₂, 10X PCR buffer, dNTPs, 그리고 각각의 제조된 primer를 Taq DNA polymerase (QIAGEN, Germany)과 중합반응 시켰다. PCR 반응 조건은 94°C에서 5분간 pre denaturation 시킨 후, 94°C에서 1분간 denaturation, 각 primer에 따라 58~62°C의 온도에서 30초~1분간 annealing, 72°C에서 1분간 extension을 총 28~35회 실시하였다. 마지막으로 72°C에서 5분간 postelongation 시켜 충분히 PCR 산물을 얻어내어 전기영동을 실시하기 전까지 4°C에서 보관하였다.

전기영동은 6X loading dye를 7 µL의 PCR 산물과 혼합 후 2% agarose gel에 loading 하여 100 V로 30분간 전기영동 하였다. Ethidium bromide (EtBr)로 10분간 염색한 후 Image analyzer (VILER LOURMAT) 하에서 관찰하고 촬영하였다. GAPDH의 발현 양에 비례하여 각 유전자의 발현 양의 변화를 비교하였다. 각 반응은 3회 이상 수행하여 통계처리 하였다.

6. 통계학적 분석

통계학적 유의성 검정은 일원분산분석(one-way ANOVA test)을 사용하였고, *p* 값이 0.05보다 작은 경우를 유의하다고 판정하였다. 반복 시험의 결과는 평균±표준편차평균(SEM)으로 나타내었다.

결 과

1. 체중 및 기관 무게의 변화

방사선 전신 조사 및 염화수은(II)의 음수 처리 2주후의 체중 증가치를 실험군간 비교하였다 (Fig. 1). 2주간 염화수은을 음용한 실험군과 방사선을 조사한 군의 체중을 비교 했을 때, 대조군(144.6±1.27 g)에 비하여 방사선

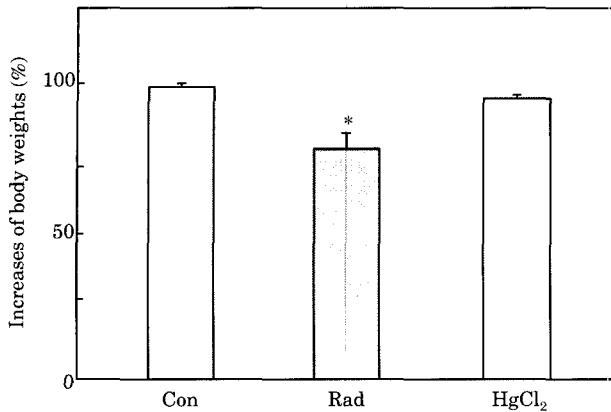


Fig. 1. The rate of the increase in the body weight during experimental period. Abbreviations; Con, control group; Rad, irradiated group; HgCl₂, mercury chloride (II)-exposed group. *, $p < 0.05$.

조사군의 평균 체중(123.8 ± 5.81 g)은 약 14.4% (20.8 g) 감소하였고 염화수은의 음용군의 경우(151.63 ± 2.17 g)에는 대조군에 비해 평균 체중이 약 4.9% (7.04 g) 증가하였다. 즉, 대조군에 비하여 염화수은(II)을 처리한 군은 체중 증가율이 유사하게 일어났으나, 방사선을 전신 조사 후 2주가 지난 실험군의 경우에는 유의한 감소를 보였다. 이 방사선 조사군의 경우는 지속적인 감소로 5주 경과 시에는 대조군에 비하여 약 40% 정도의 체중 감소를 보였다.

Table 1의 경우는 조직의 채취 당시의 습무게(wet weights)를 측정하여 산출한 기관지수(organ indices)의 차이를 통계적 유의성으로 구분하여 정리하였다(+, $p < 0.05$). 간의 무게를 실험군간 비교해 보면 방사선을 전신 조사한 실험군의 경우(6.07 ± 0.27 g)에 대조군의 무게(6.61 ± 0.23 g)에 비해서 간의 무게가 평균 0.53 g (9.1%) 감소하였고, 염화수은을 음용시킨 실험군(6.83 ± 0.11 g)에서는 간의 무게가 대조군에 비해서 평균 0.23 g (3.5%) 증가한 것을 확인하였다. 방사선을 전신 조사한 경우의 신장의 무게(0.62 ± 0.02 g)는 대조군의 것(0.65 ± 0.03 g)에 비교 시 평균 무게가 0.021 g (3.3%) 감소하였고 염화수은을 처리한 실험군의 신장 무게(0.77 ± 0.01 g)는 대조군과 비교 시 평균 무게가 0.129 g (20.2%) 증가하였다($p < 0.05$). 다른 기관의 무게 변화에 비해 방사선을 조사한 실험군의 무게 감소가 신장에서는 차이를 보이지 않았으나, 염화수은 처리 실험군내에서는 다른 기관 무게 변화에 비해 신장의 무게 변화가 가장 높게 나타났다. 이 결과는 무게 변화를 통한 기관의 영향도가 염화수은의 경우 신장에 특이적으로 영향이 큰 것을 짐작할 수 있다.

방사선에 의한 직접적인 영향이 가장 큰 것으로 알려

Table 1. Statistical distinction of body weight and organ indices between experimental groups

	Control	Irradiation	HgCl ₂ (II)
Body wt	-	+	-
Liver	-	-	-
Kidney	-	-	-
Spleen	-	+	-
Testis	-	+	-

The '+' represents a case which is statistically significant ($p < 0.05$).

져 있는 비장의 무게 변화를 실험군간 비교하였다. 방사선을 전신 조사한 실험군의 비장의 무게(0.25 ± 0.01 g)는 대조군의 것(0.42 ± 0.003 g)과 비교 했을 때 41%의 평균 무게 감소(약 0.173 g)를 보였다. 염화수은을 처리한 실험군의 비장의 무게(0.43 ± 0.006 g)는 대조군과 동일한 수치를 보였다($p < 0.02$). 방사선에 의한 특이적 손상이 비장에 영향을 주는 것을 알 수 있으며, 염화수은에 의한 영향과는 대상이 확연히 다를 것을 보여준다. 정소의 무게에 대한 실험군간 차이를 보면 방사선에 전신 조사한 실험군의 경우(0.58 ± 0.02 g)에는 평균 무게가 대조군의 것(0.86 ± 0.02 g)과 비교 했을 때 33.3% 감소(약 0.28 g)하였고, 염화수은을 처리한 실험군의 경우(0.89 ± 0.01 g)에는 평균 정소의 무게가 약 3.3% 증가 하였으나 대조군과 유사한 수준을 보였다.

결론적으로 방사선을 조사한 실험군에서는 대조군과 비교하여 체중뿐만 아니라 방사선에 민감한 면역기관인 비장과 생식기관인 정소의 기관지수 감소가 뚜렷이 나타났다. 수은을 처리한 실험군에서는 대조군과 체중 증가율의 차이를 보이지 않았으나, 신장의 무게가 증가하는 것으로 나타났다.

2. 혈액내 지표 인자의 변화

이온화 방사선은 조혈조직의 손상을 일으켜 골수 및 면역 기능을 저하시키고 백혈구 감소, 출혈, 빈혈, 기타 감염의 증가를 유발시키게 된다. 이로 인한 2차적인 부작용 유발로 생명체는 회복 불가능한 결과를 초래하게 된다. 수은의 음용에 의한 조혈조직의 손상을 방사선과 비교하여 분석한 결과가 Fig. 2에 정리되어 있다.

적혈구의 경우 방사선을 조사한 경우($4.45 \pm 0.18 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$)에는 대조군의 평균 수치($7.37 \pm 0.18 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$)과 비교 시 약 40%의 감소가 확인되었고, 염화수은을 2주간 음용한 실험군($10.53 \pm 0.08 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$)에서는 방사선 조사군과 달리 42.8% 증가하는 것을 확인하였다. 적혈구의 이상 증가는 탈수나 충격 등으로 나타날 수 있는 결과이나 이 실험군의 경우는 부신부전증과 관련한 결과로 사료된다. 백혈구의 경우에는 방사선을 조사한 군($0.58 \pm$

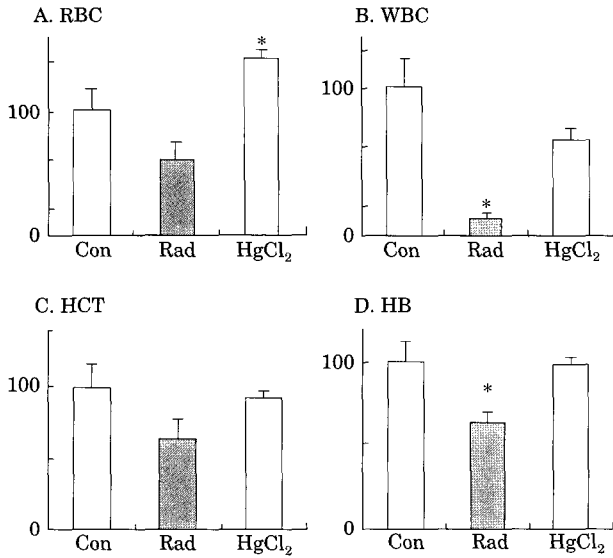


Fig. 2. Changes in hematological parameters of the experimental animals. Abbreviations; Con, control group; Rad, irradiated group; HgCl₂, mercury-exposed group; RBC, red blood cells; WBC, white blood cells; HCT, hematocrit; HB, hemoglobin. *, *p* < 0.05.

0.03 × 10³ μL⁻¹)이 대조군의 평균 수치 (5.08 ± 0.42 × 10³ μL⁻¹)에 비교한 경우 현저히 낮은 11% 정도의 수준을 보였다. 염화수은을 음용시킨 실험군의 경우 (3.29 ± 0.08 × 10³ μL⁻¹)에도 약 36% 감소를 확인하였다. 백혈구의 수치는 일반적으로 회복불가능 빈혈 등의 악성 빈혈의 경우 나타나는 증상으로 볼 수 있다. 방사선 전신 조사에 따른 백혈구 증가와 비교 했을 때, 염화수은을 저농도로 음용시킨 실험동물에서도 백혈구 감소가 나타난 것은 특이적인 결과이다. 혈액 응고와 관련된 혈소판 (platelet)의 수치는 대조군의 수준 (861 ± 6.5 × 10³ μL⁻¹)에 비해 방사선 조사군의 수치 (235.7 ± 12.3 × 10³ μL⁻¹)가 약 73% 감소된 것을 확인하였다. 염화수은 음용군의 경우 (945.3 ± 20 × 10³ μL⁻¹)는 대조군의 경우보다 7.7% 증가된 수준을 보였다. 헤모글로빈 (Hb), 적혈구 용적치 (hematocrit) 등의 평가 항목에서도 방사선 조사군은 대조군의 수치와 비교 평가시 유의하지는 않으나 낮은 수치를 보였고, 염화수은 음용군의 경우에는 대조군과 유사한 수준을 유지하였다.

3. 혈청내 cortisol 농도의 변화

Cortisol (hydrocortisone)은 당류피질 호르몬의 대표적 인 것으로, 주 기능은 지방과 단백질로부터 당질로의 전환 작용, 즉 gluconeogenesis에 관여 한다. 감염, 손상, 스트레스에 의해서 빠르게 증가하는 호르몬으로 스트레스 호

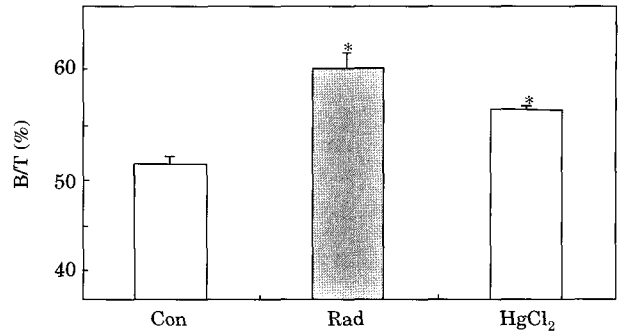


Fig. 3. levels of cortisol in serum of experimental animals.

르몬으로 불리기도 한다 (Harvey et al. 1994). Cortisol이 과잉 분비될 경우 체내 단백질의 파괴와 지방의 재배열로 근무력증, 피부 결합조직 파괴, 복부, 얼굴, 어깨 뒤에 체내 지방이 주로 축적되고 얼굴과 몸통이 비대해지고 골다공증, 여드름, 다모증, 우울증, 정신이상 및 당뇨와 고혈압이 되는 쿠싱 증후군 (Cushing's syndrome)이 일어나게 된다 (Rolilin et al. 2004). 또한 cortisol의 분비가 저하되었을 때는 부신 피질의 파괴로 에디슨병 (Addison's disease)이 발병하게 된다 (Winqvist et al. 1996). 이 실험에서의 대조군의 평균 농도에 비교 시 방사선 조사군은 약 14.5% 증가하고 염화수은 음용군은 약 8.1% 증가를 보였다 (Fig. 3).

4. 기관내 세포자연사 증재 인자의 발현 변화

세포자연사를 매개하는 세포내 분자 중 미토콘드리아와 관련한 세포자연사 신호전달을 증재하는 bax와 bcl-2에 대한 mRNA 발현 양상을 정소와 신장 기관에서 조사하였다. 각 분자의 발현은 생체내 house keeping gene인 GAPDH에 대한 발현양에 대해 그 비율을 이미지 분석을 통해 비교·확인하였다. 정소에서 방사선을 조사했을 경우에 bax의 발현은 대조군에 비해 현저하게 증가 (약 220%) 하였으며, 염화수은을 처리한 경우에는 방사선을 조사한 경우보다는 낮으나 대조군 수준 이상의 발현 (약 180%)을 보였다. 그러나 정소내 bcl-2의 경우에는 방사선 조사군은 대조군에 비해 유의하게 증가된 발현을 보인 반면 염화수은의 경우에는 대조군보다 낮아지는 경향 (25% 감소)을 확인하였다. 신장에서 보이는 bax의 발현은 방사선을 조사한 경우와 같이 급격한 증가를 보이지는 않았으나 유의하게 증가하였으며, 두 실험군에서 증가를 보였다. bcl-2의 경우, 정소에서는 증가하고 신장에서는 대조군보다 낮은 발현을 보였다.

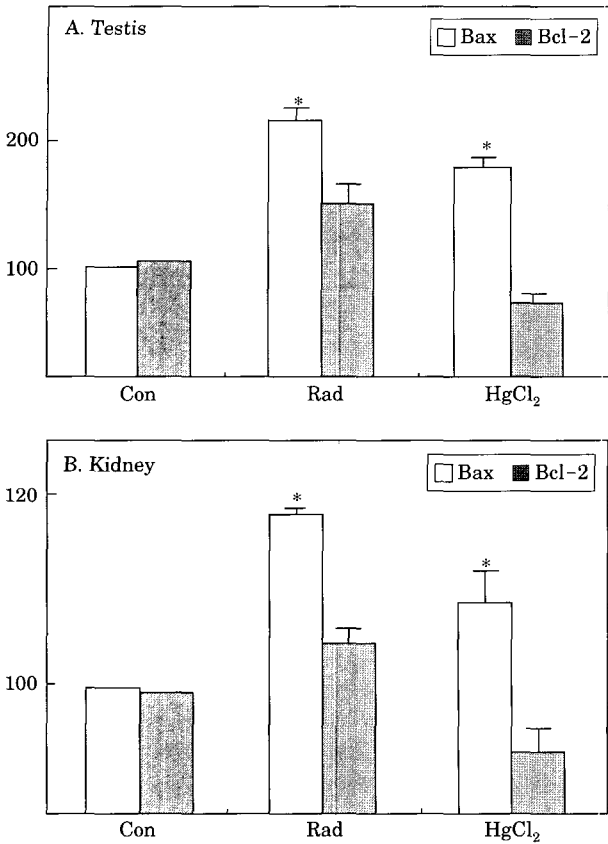


Fig. 4. Comparison of mRNA expression levels of bax and bcl-2 in testis and kidney of the experimental animals.

고찰

급격한 산업 문명의 발달 및 인간 활동의 증가로 인한 생태계 오염은 매우 다양한 형태로 나타나고 있다. 중금속의 생태계 오염이 심각한 유해인자로 간주되고 있으나 이들 중금속의 생물학적 위해성에 관해서는 분명하게 밝혀져 있지 않은 경우가 많다. 특히 수은의 경우 그 화학적 형태의 다양성과 산업상의 유용성으로 인해 대기 오염을 포함한 다방면의 오염을 유발하고 있다. 세계 여러 국가에서 화학적 오염원에 대한 모니터링 및 관리감독 및 제재가 적극적으로 이뤄지고 있다. 수은과 같은 유독성 화학물질의 생태계 유입은 오염의 파급효과가 매우 빠르게 나타나고 있으며 일본 등에서는 그 피해가 심각하게 나타난 바 있다. 수은의 생물학적 영향에 대한 연구는 대부분 높은 농도의 수은을 처리하여 수행하는 실험 연구이기 때문에 일반적으로 노출될 수 있는 환경 수준에서의 위해성을 파악하기는 어렵다. 따라서 본 연구에서는 기존 수은에 대한 동물 실험의 농도를 낮추어, 이온화 방사선의 생물학적 효과와 비교함으로써 독립적인 외인

적 요인에 의한 위해 정도를 수평적으로 비교하였다.

실험기간 동안 염화수은을 음용수에 녹여 투여하였으며, 방사선을 전신조사한 실험 동물간 각 항목 분석치를 비교하였다. 실험의 시작점에서 종료까지의 체중의 변화는 수은을 처리한 실험군에서는 통계적으로 유의하지는 않으나 증가하는 경향을 보였으며, 방사선을 조사한 실험군에서는 유의한 체중 감소를 보였다(Fig. 1). 이는 본 실험에서 처리한 수은의 농도가 급성 독성을 일으키는 수준이 아니기 때문에 방사선 조사군에서 보이는 급격한 체중의 변화를 야기하지 않은 것으로 사료된다. 그러나 각 기관의 기관지수를 산출한 결과 신장을 제외한 간장, 비장 및 정소의 지수는 대조군과 차이를 보이지 않았으나, 신장의 경우에는 증가하는 양상을 보여 염화수은의 처리에 따른 변화를 보였다. 방사선을 조사한 실험군의 경우에는 간장과 신장은 대조군과 유사한 수치치를 보였으나, 비장 및 정소의 지수는 현저하게 감소하였다(Table 1). 이 감소된 수치치는 실제적인 무게 수치상으로는 다른 실험군과 통계적으로 매우 큰 차이를 보였으나 ($p < 0.02$), 기관 지수의 산출과정에서 체중에 대비한 값으로 환산함으로써 차이가 감소하였다. 비장과 정소는 방사선을 전신조사 하였을 때 가장 뚜렷한 변화를 나타냄으로써 이 두 기관이 실질적으로 방사선에 민감한 기관임을 확인되었다. 따라서 기관지수를 통한 기관 무게에 따른 두 인자의 영향은 염화수은의 경우에는 저농도를 음용시켰을 때에 유의한 체중 변화는 보이지 않았으나 신장의 무게가 증가하였고, 방사선을 조사한 실험군의 경우에는 현저하게 체중 증가율의 감소를 보였으며, 비장과 정소의 기관 지수가 유의하게 감소하는 것으로 대상기관과 영향을 주는 양상의 차이를 볼 수 있었다.

혈액내 몇 가지 구성물의 수준 변화를 확인한 결과에 따르면, 방사선에 의해서는 백혈구가 급격하게 감소하는 것과 적혈구를 비롯한 모든 조사 인자의 감소를 확인하였으나 수은에 의해서는 백혈구의 미미한 감소와 적혈구 및 헤모글로빈 등이 증가하는 경향성을 볼 수 있었다(Fig. 2). 이 증가는 염화수은이 순환계에서 적혈구내 헤모글로빈 등과 결합하는 대사적 특성에 의한 것(Gochfeld 2003)으로 판단되며, 수은은 이러한 결합을 통해 체내 주요기관의 손상을 야기하게 된다. 신장에 있어서는 수은의 체류 기간이 다른 기관에 비해 길기 때문에 수은 영향의 주대상기관이 되고 있는 것으로 사료된다(Emanuelli et al. 1996). 방사선을 전신조사한 실험군에서 보이는 혈액학적 지표들의 변화는 방사선 노출에 의한 일차적인 비장 및 조혈기관의 손상과 그에 따른 면역계의 이상을 보여주는 것으로, 염화수은을 음용시킨 경우의 수치와는 차이를 보인다.

스트레스 호르몬으로 알려져 있는 cortisol의 혈청내 농도 변화(Fig. 3)는 두 실험군 모두 증가하는 것으로 나타났다. 방사선과 마찬가지로 염화수은의 경우는 신장 대사와 관련한 부신의 손상이 이러한 증가의 원인인 것으로 보인다. 혈청내 cortisol의 증가는 방사선 전신조사에 의한 체중 감소 등에서 보이는 것과 같이 기본적인 생체 시스템의 손상에 따르는 것으로 보이나 염화수은의 경우에는 기관 및 체중의 변화와 같은 큰 손상이 야기된 것은 아니나 미네랄 대사와 관련한 신장기능의 이상(Leblond and Hontela 1999)이 그 증가의 원인으로 사료된다.

외부 자극에 민감한 생식소인 정소와 염화수은의 주표적기관인 신장에서 세포자연사를 매개하는 분자에 대한 mRNA 발현 수준을 비교 하였다(Fig. 4). 이 결과 정소에서는 두 배 이상의 bax 발현이 방사선 조사에 의해 증가 되는 것을 확인하였으며, 염화수은 처리에 의한 결과와는 증가율에서 큰 차이를 확인할 수 있었다. 그러나 bcl-2 발현을 비교해 본 결과 방사선에 의한 증가와는 달리 염화수은을 음용한 실험군에서는 대조군 이하의 발현을 보여 방사선에 의해 야기되는 세포자연사와는 그 기전이 다른 것을 확인 할 수 있었다(Nath *et al.* 1996). 신장에서 확인한 두 분자의 발현도 정소의 경우와 유사하게 나타났다. 방사선을 조사한 경우에 신장에서의 그 증가율이 정소처럼 급격하게 나타나지 않는 것을 알 수 있었다. 그러나 두 분자의 발현 양상은 정소에서와 유사하여 결과적으로 일어나는 세포자연사 기전이 두 외인성 위해 요인에 따라 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있다. 이것은 세포자연사 관련 분자의 추가적인 발현 양상을 조사하여 비교해 보아야 할 것으로 여겨진다.

본 실험의 결과들을 통해 염화수은 처리와 이온화 방사선의 조사에 따른 손상의 차이 및 대상 기관이 명확히 다른 것으로 보이며, 그 기전 또한 확연히 다른 것을 확인할 수 있었다. 그러나 부가적인 실험을 통해 실제 환경준위와 유사한 노출과 복합적인 영향에 대한 것을 확인할 필요가 있다. 이는 단일 요인에 의한 손상이 다발적 외인성 자극과 동시에 일어났을 때 어떠한 양상으로 변화되는 지에 관한 실질적인 정보를 제공할 것이다.

적 요

생태계는 수은의 화학적 형상 및 산업화에 따른 방출로 지속적이면서 다양하게 오염된다. 또한 수은은 화학적 여러 형태로 분류되며 쉽게 기화되는 성질로 인해 수은을 공정하는 과정에서 수많은 근로자들이 쉽게 급성 혹은 만성 중독이 될 수 있다. 그러나 수은의 유독성이 알

려져 있기는 하나 생체가 환경에서 노출 가능한 저농도의 수은 영향에 대해서는 정확한 접근이 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 실험은 이온화 방사선과 염화수은(II)의 영향을 비교해보고자 수행하였다. 미성숙의 웅성 F344 흰쥐의 음용수에 염화수은을 녹여 실험기간 동안 음용시켰으며, 방사선 조사군의 경우는 6.5 Gy의 감마선을 전신 조사하여 실험기간 동안 관찰하였다. 실험기간 동안의 체중의 변화량을 대조군과 비교 하였을 때, 염화수은을 처리한 군은 4.9% 증가를 보였으나, 감마선을 조사한 군에서는 14.4% 감소를 보였다. 혈액적 표지 인자들의 농도를 분석하여 각각 비교하였을 때, 염화수은을 처리하였을 때의 결과는 방사선을 전신조사한 것과는 확연히 다른 양상을 나타내었다. 반면 스트레스 호르몬으로 알려진 대표적인 부신피질 호르몬인 cortisol의 혈청내 농도는 대조군에 비해 두 실험군에서 모두 상승하였다. 각 외인성 인자에 의한 세포자연사 양상을 비교하고자 정소와 신장 조직에 대한 역전사중합반응을 실시하였다. Bax mRNA 분자의 발현은 두 실험군의 정소와 신장에서 모두 증가하였으나, Bcl-2 mRNA는 실험군에 따라 혹은 기관에 따라 다른 양상을 보였다. 본 실험의 결과 염화수은(II)은 주대상기관을 신장으로 하여 그 손상 기전은 이온화 방사선의 것과 구별되는 양상을 나타나는 것으로 확인하였다.

사 사

본 연구는 과학기술부에서 시행하는 원자력연구개발사업의 지원으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- 국립환경연구원 1988. 우리나라 농토양 및 현미 중 중금속 자 연함유량에 관한 조사 연구.
- Boening DW. 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere* 40(12):1335-1351.
- Diamond GL and RK Zalups. 1998. Understanding renal toxicity of heavy metals. *Toxicol. Pathol.* 26(1):92-103.
- Emanuelli T, JB Rocha, ME Pereira, LO Porciuncula, VM Morsch, AF Martins and DO Souza. 1996. Effect of mercuric chloride intoxication and dimercaprol treatment on delta-aminolevulinatase dehydratase from brain, liver and kidney of adult mice. *Pharmacol. Toxicol.* 79(3):136-143.

- Fukuda S, S Tsuchikira and H Iida. 2004. Age-related changes in blood pressure, hematological values, concentrations of serum biochemical constituents and weights of organs in the SHR/Izm, SHRSP/Izm and WKY/Izm. *Exp. Anim.* 53(1):67-72.
- Gochfeld M. 2003. Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Ecotox. Environ. Safe.* 56:174-179.
- Harvey PW, G Healing, SJ Rees, DJ Everett and A Cockburn. 1994. Glucocorticosteroid interactions with natural toxins: a mini review. *J. Nat. Toxins* 2(6):341-346.
- Horikoshi T and M Sakakibara. 2000. Quantification of relative mRNA expression in the rat brain using RT-PCR and ethidium bromide staining. *J. Neurosci. Meth.* 99:45-51.
- Igata A. 1993. Epidemiological and clinical features of Minamata disease. *Environ. Res.* 63(1):157-169.
- Kim JH, JK Kim, BH Lee, HJ Kim, KB Park and KB Park. 2004. Alteration of intracellular signaling following KW water administration in apoptosis-induced animal models. *J. KASBIR.* 4(1):189-195.
- Kim JK, JH Kim and YD Yoon. 2003. Evaluation of caffeine as a radioprotector in whole-body irradiated male mice. *In Vivo* 17:197-200.
- Leblond VS and A Hontela. 1999. Effects of in vitro exposures to cadmium, mercury, zinc, and 1-(2-chlorophenyl)-1-(4-chlorophenyl)-2, 2-dichloroethane on steroidogenesis by dispersed interrenal cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 157(1):16-22.
- Lee CJ, HH Park, BR Do, YD Yoon and JK Kim. 2000. Natural and radiation-induced degeneration of primordial and primary follicles in mouse ovary. *Ani. Reprod. Sci.* 59:109-117.
- Nath KA, AJ Croatt, S Likely, TW Behrens and D Warden. 1996. Renal oxidant injury and oxidant response induced by mercury. *Kidney Int.* 50(3):1032-1043.
- Takahashi A. 2002. Pre-irradiation at a low dose-rate blunted p53 response. *J. Radiat. Res.* 43:1-9.
- Thorne MC. 2003. Background radiation: natural and man-made. *J. Radiol. Prot.* 23(1):29-42.
- Uma DP. 2003. Radiosensitivity of the developing haematopoietic system in mammals and its adult consequences: animal studies. *Br. J. Radiol.* 76(906):366-372.

Manuscript Received: June 1, 2004

Revision Accepted: August 5, 2004

Responsible Editorial Member: Jin Kyu Kim
(KAERI)