

카드뮴의 중추신경계 독성유발 기전

이종화*, 장봉기, 박종안, 박종영, 김완종¹, 우기민²

순천향대학교 환경보건학과, ¹생물학과, ²의과대학 생화학교실

The Mechanism of the Neurotoxicity Induced by Cadmium

Jong-Wha Lee*, Bong-Ki Jang, Jong-An Park, Jong-Young Park,
Wan-Jong Kim¹ and Ki-Min Woo²

¹College of Natural Science, Soonchunhyang University, Asan-Si 336-745, Korea

²College of Medicine, Soonchunhyang University, Cheonan-Si 330-170, Korea

ABSTRACT

Although numerous studies have shown that cadmium disturbs the normal biological processes in central nervous system, the mechanism of toxicity is not well understood. The present study has investigated the effect of cadmium on oxidative stress, Na⁺/K⁺ ATPase activity and the aggregation of amyloid beta peptide (β -amyloid) in neuronal cell line, HT22 cell. LC₅ and LC₅₀ of cadmium for HT22 cell resulted from MTT assay was 4.1 μ M and 9.5 μ M, respectively. Cadmium (2 to 8 μ M) dose-dependently increased the lipid peroxidation and decreased the content of glutathione. Cadmium 4 μ M showed a significant decrease in Na⁺/K⁺ ATPase activity as compared with control group. The aggregation of β -amyloid was accelerated in a dose-dependent manner by the treatment with 2 to 8 μ M cadmium. These results suggest that the neurotoxicity of cadmium can be mediated by the increase in oxidative stress and decrease in Na⁺/K⁺ ATPase activity.

Key words : cadmium, lipid peroxidation, glutathione, Na⁺/K⁺ ATPase, β -amyloid

서 론

카드뮴은 전기도금, 안료, 플라스틱, Cd-Ni 배터리 등 산업적으로 다양한 용도로 이용되고 있다. 그 사용증가로 인하여 환경 및 식품에 광범하게 존재하고 있으며, 독성잠재력에 대한 관심이 고조되고 있다. 카드뮴은 인체내 반감기가 20~30년 정도로 나이가 들수록 간, 신장 및 뇌에 축적되어 독성을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 신장, 고환, 호흡기계에 대한 부작용을 나타낼 뿐만 아니라

※ To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-41-530-1271, E-mail: leejong@sch.ac.kr

(Johnson, 2001) 어린이에 있어 학습능력저하 및 과도한 반응과 같은 중추신경계에 대한 독작용을 초래한다(Lui *et al.*, 1990; Panayi *et al.*, 2002).

카드뮴의 중추신경계에 대한 독성기전으로는 반응성 산소종(ROS, reactive oxygen species)의 생성유발(Kumar *et al.*, 1996; Szuster-Ciesielska, 2000; Riso-de Faverney, 2001), 항산화 방어시스템(antioxidant defence systems)의 장애, 세포내 Ca⁺⁺농도의 증가(Wong and Klaassen, 1980), 아연결핍 유도작용(Wong and Klaassen, 1982) 등이 보고되고 있다. 특히, 카드뮴은 다양한 뇌신경세포에서 반응성 산소종의 합성을 촉진하여 과산화물 생성 증가, 세포내 산화상태 변화, DNA 손상, 세포막 손상, apop-

toxis를 유발하는 것으로 보고되고 있다(Cantilena and Klaassen, 1981). 그러나 지금까지 보고된 독성 기전 중에서 어떤 것이 카드뮴의 중추신경계 독성 유발에 주요한 역할을 하는지가 불분명하며, 특히, 카드뮴은 뇌의 blood brain barrier가 완전히 발달되지 않은 어린이를 제외한 성인의 경우에는 중추신경계로 잘 이행되지 않는 것으로 알려져 카드뮴에 의한 중추신경계 독성작용은 말초영양에 의한 간접적인 영향인지 중추신경계에 대한 직접적인 영향인지 아직 명확하게 밝혀지지 않고 있는 실정이다.

한편, 최근에 카드뮴에 의해 초래되는 세포내 여러 생리·생화학적 영향들이 알츠하이머병의 유발에 관련이 있다는 사실이 밝혀지고 있다. Kanski 등(2002), Arlt 등(2001) 및 Glabe(2001)는 반응성 산소종이 지방과산화, 단백질 산화 및 신경독성을 유발하며, 이는 알츠하이머병의 촉발 및 진행에 기여한다고 보고하였다. 또한 자유라디칼에 의한 산화적 스트레스는 동맥경화증, 당뇨병 및 퇴행성 신경 질환에 관련이 있으며, 비타민 E와 C 같은 항산화성 물질이 치매의 임상적 증상을 지연시키거나 억제할 수 있는 것으로 나타났다(Pitchumoni and Doraiswamy, 1998; Grundman, 2000; Abuja and Albertini, 2001). 카드뮴은 뇌신경세포에서 항산화 방어기전에 중요한 역할을 하는 glutathione, superoxide dismutase 및 glutathione-S-transferase의 함량을 감소시키며, 이는 치매의 발생 및 진행에 관계하는 것으로 조사되었다(Raj *et al.*, 1996; Figueiredo-Pereira and Cohen, 1999; Adams *et al.*, 2001; Karelson *et al.*, 2001).

따라서 본 연구에서는 뇌신경 배양세포에서 카드뮴에 의한 산화적 스트레스의 증가작용을 관찰하고, 칼슘의 항상성에 중요한 역할을 하는 Na^+/K^+ ATPase의 활성 및 amyloid beta peptide (A β)의 응집에 미치는 영향을 관찰함으로써 카드뮴의 중추신경계에 대한 독성작용 기전을 규명하고, Alzheimer's disease와의 관련성을 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 세포주 및 배양

Cadmium의 중추신경계에 대한 독성기전으로는 reactive oxygen species (ROS)의 생성 유발, antio-

xydant defence systems의 장애 등이 보고되고 있어, 최근에 oxidative stress 연구에 많이 이용되고 있는 HT22 cell (hippocampal neuron cell line)을 대상 세포종으로 선정하였다. 본 연구에 사용한 세포주 HT22는 아주대학교 생리학교실에서 분양받았으며, 10% fetal bovine serum (FBS)이 첨가된 DMEM배지를 사용하여 5% CO₂, 95% air, 37°C의 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양액을 흡인 제거한 후 0.25% trypsin-EDTA, 1 ml를 가하여 배양기에서 3분간 방치시킨 후에 5 ml의 배지가 든 원심분리용 튜브에 세포를 수확하였다. 1,500 rpm에서 5분간 원심분리한 후에 상등액을 제거하고 새로운 배지 5 ml로 현탁하여 배양플라스크에 분주하였다.

2. 실험 세포주의 카드뮴 처리

1) 카드뮴 농도 결정-MTT Assay

카드뮴이 세포의 생존 및 성장에 미치는 영향을 관찰하고자 MTT assay를 시행하였다. MTT assay는 살아있는 세포의 미토콘드리아에 있는 succinate dehydrogenase에 의하여 tetrazolium 염이 파란색의 formazan으로 환원되는 성질을 이용하여 세포의 생존 및 성장을 측정하는 방법이다. Formazan을 microELISA reader로 595 nm에서 흡광도를 측정한다.

2) LC₅₀ 산출 및 카드뮴 처리

MTT assay 결과로부터 HT22 세포에 대한 카드뮴의 LC₅와 LC₅₀를 산출하기 위하여 미국 EPA에서 제공하는 Benchmark Dose Software (BMDS)를 이용하였다. 세포에 대한 LC₅₀를 기초하여 카드뮴의 처리농도를 결정하였다.

지방과산화물 생성 및 glutathione의 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 카드뮴(CdCl₂)을 농도별(0, 2, 4 또는 8 μM)로 처리하고 4시간 후에 세포를 수확하여 실험에 사용하였다.

3. 카드뮴의 산화적 스트레스에 미치는 영향

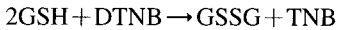
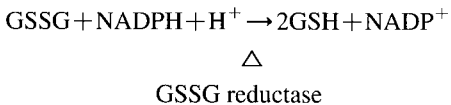
1) 과산화물 측정

HT22 세포에 농도별로 카드뮴을 처리하고, 8시간 배양한 후에 지방과산화의 지표로서 thiobarbituric acid-reactive substances를 Galvino 등의 방법으로 측정하였다(Miki and Teruo, 2000). 20% trich-

loroacetic acid 2.5 ml를 가하여 세포를 사멸 및 파괴시키고, 0.67% thiobarbituric acid 4.5 ml를 가한 후에 15분간 끓인다. 원심분리한 후에 형광분광광도계 (Ex: 515 nm, Em: 553 nm)로 형광 세기를 측정한다. 1, 1, 3, 3-tetramethoxypropane을 표준액으로 작성한 검량선을 이용하여 형광 세기를 nmol MDA량으로 환산하였다.

2) Glutathione 측정

세포내의 glutathione (GSH) 량은 Tietze가 개발한 DTNB-GSSG reductase recycling assay법에 따라 측정하였다(Tietze, 1969). 총 GSH 정량에 이용되는 recycling assay법은 특이적 효소과정으로 매우 민감한 방법이다. 측정원리는 oxidized glutathione (GSSG)를 glutathione reductase와 NADPH를 이용하여 GSH로 환원시키고, GSH에 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB)를 가하여 2-nitro-5-mercaptobenzoic acid (TNB)를 생성시킨다.



TNB의 생성속도를 분광광도계로 412 nm에서 측정하였으며, 표준물질로 glutathione을 사용하여 작성한 검량선으로부터 시료중의 glutathione 함량을 산출하였다.

4. 카드뮴이 Na^+/K^+ ATPase 활성에 미치는 영향

카드뮴이 Na^+/K^+ ATPase의 활성에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 HT22 배양세포에 카드뮴 2, 4, 8 μM 을 각각 처리한 후 4시간에 세포를 수확하여 실험에 사용하였다. Na^+/K^+ ATPase 활성은 Rhon 등의 방법으로 측정하였으며 (Rohn *et al.*, 1993), 실험과정을 간략하게 기술하면 다음과 같다. 세포를 20 mM imidazole, 0.6 mM EGTA 및 0.1 mM PMSF가 포함된 900 μl 의 차가운 완충용액으로 용해시켰다. 용액을 원심분리한 후에 잔류물을 40 mM histidine과 400 mM imidazole을 함유한 완충용액에 현탁시키고, 일부의 용액을 취하여 단백질

을 정량하였다. 위의 용액 10 μl 를 80 μl 의 완충용액 (18 mM histidine, 18 mM imidazole, 80 mM NaCl, 15 mM KCl, 3 mM MgCl_2 , 0.1 mM EGTA, pH 7.1)과 섞어 96-well plate에 가하고, ouabain을 첨가한 것과 첨가하지 않은 것을 37°C에서 1시간 배양하였다. 10 μl 의 Fiske-Subbarow 시약을 가한 후에 ELISA reader로 630 nm에서 흡광도를 측정함으로써 Na^+/K^+ ATPase 활성을 측정하였다.

5. 카드뮴이 $\text{A}\beta$ 의 aggregation에 미치는 영향

카드뮴이 β -amyloid ($\text{A}\beta$)의 응집에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 HT22 배양세포에 카드뮴 2, 4, 8 μM 을 각각 처리한 후 4시간에 세포를 수확하여 실험에 사용하였다. β -Amyloid의 응집에 미치는 영향을 편광현미경으로 관찰하였으며, 실험과정을 간략하게 기술하면 다음과 같다. 세포 배양액을 14,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후에 잔류물을 탈이온수로 3~5회 세척하고, 30 μl 의 탈이온수에 현탁하였다. 현탁액을 현미경 슬라이드에 가하여 건조시키고, 50% Congo red (에탄올)로 5분간 염색하였다. 슬라이드를 복굴절 편광현미경으로 β -amyloid의 응집을 관찰하였다.

6. 자료 처리

실험자료의 분석은 SPSS 통계프로그램 (ver. 11.0)과 Microsoft excel을 이용하였으며, 대조군과 처리군의 차이는 t-test로 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 카드뮴이 HT22 세포의 생존 및 성장에 미치는 영향-MTT assay

카드뮴이 세포의 생존 및 성장에 미치는 영향을 관찰하고자 실시한 MTT assay 결과는 Fig. 1과 같다. MTT assay는 96-well microplate 배양에서 3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (tetrazolium salt, MTT)가 살아있는 세포의 미토콘드리아에 있는 succinate dehydrogenase에 의해 불용성 푸른색의 formazan으로 환원되는 원리를 이용하는 방법으로 세포의 생존과 성

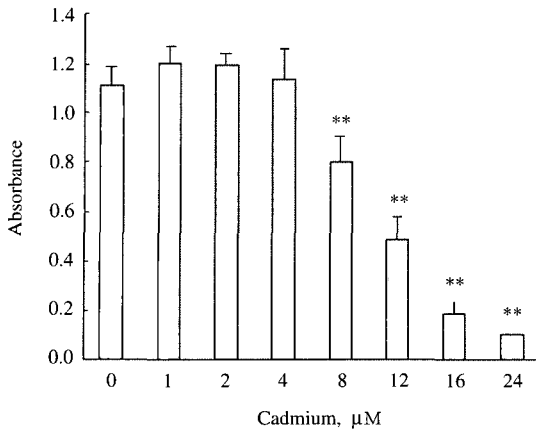


Fig. 1. The effect of cadmium on the survival and proliferation of HT22 cell. **P < 0.01 represents significant differences compared with control group.

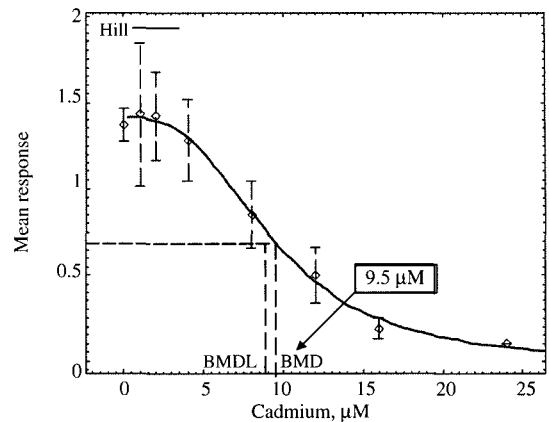


Fig. 3. LC₅₀ of cadmium in HT22 cell calculated by BMDS (benchmark dose software) using a different continuous hill model.

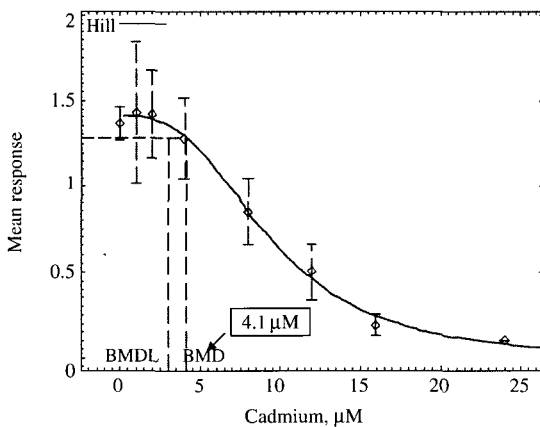


Fig. 2. LC₅ of cadmium in HT22 cell calculated by BMDS (benchmark dose software) using a different continuous hill model.

장을 빠르고, 민감하게 측정할 수 있다. 카드뮴 2 μM까지는 흡광도에 변화가 없는 것으로 보아 HT22 세포의 생존 및 성장에 영향이 없는 것으로 나타났으며, 카드뮴 8 μM에서는 흡광도가 40% 정도 감소하였다. 24 μM에서는 모든 세포가 죽은 것으로 관찰되었다.

2. 카드뮴의 LC₅와 LC₅₀ 산출

MTT assay 결과로부터 LC₅와 LC₅₀를 산출하기

Table 1. Contents of thiobarbituric acid-reactive substances in HT22 cells treated with cadmium

Groups	Lipid peroxidation (n mole MDA/mg protein)
Control (Cd 0 μM)	0.73 ± 0.08
Cd 2 μM	1.31 ± 0.13**
Cd 4 μM	2.02 ± 0.20**
Cd 8 μM	2.46 ± 0.19**

Results are Mean ± S.E.M. for four individual treatment groups. ** p < 0.01 compared with control group (Cd, 0 μM).

위하여 미국 EPA에서 제공하는 Benchmark Dose Software (BMDS)를 이용하였다. 그 결과는 Fig. 2와 Fig. 3과 같으며, LC₅ (BMD₅)와 LC₅₀ (BMD₅₀)은 각각 4.1 μM과 9.5 μM로 나타났다.

3. 카드뮴이 산화적 스트레스에 미치는 영향

1) 지방 과산화물의 생성에 미치는 영향

대조군과 카드뮴을 농도별로 처리한 군에서 세포 내의 지방 과산화물 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다.

HT22 세포에서 카드뮴을 농도별로 처리하였을 때에 지방 과산화물의 함량은 용량의존적으로 증가하였다 (p < 0.05). 카드뮴 8 μM 처치군에서 지방 과산화물의 함량은 대조군과 비교하여 약 3배 정도 증가하는 것으로 나타났다.

산화적 스트레스가 알츠하이머병과 관련이 있다

는 것은 잘 알려진 사실이다. 뇌에서 산화의 주요 표적은 지방과 지방단백질이며, 알츠하이머병 환자의 뇌에서 지방 과산화물의 함량이 높은 것으로 조사되었다(Pitchumoni and Doraiswamy, 1998; Rottkamp *et al.*, 2000). 최근에 Schippling 등(2000)과 Kontush 등(2001)은 산화를 알츠하이머병의 발병에 중요한 인자로 제안하였으며, 세포 내의 amyloid가 반응성 산소종의 생성과 지방의 과산화를 유발한다고 보고하였다.

2) HT22 세포 내의 glutathione 함량에 미치는 영향

이물질의 독성제거에 중요한 역할을 하며, 카드뮴의 독성기전에 관련된 glutathione의 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 대조군과 카드뮴을 농도별로 처리군에서 glutathione의 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다.

HT22 세포내의 glutathione 함량은 카드뮴에 의해 용량의존적으로 감소되었다($p < 0.01$). 카드뮴 2 μM 을 처리하였을 때 glutathione 함량은 17% 정도 감소되었으며, 8 μM 의 경우는 51% 정도 감소하였다.

① Glutathione은 중추신경계에서 뇌의 정상적인 기능유지에 매우 중요한 것으로 알려져 있다. 중추신경계에서 glutathione은 cysteine의 비독성적 저장형이며 (Cooper, 1997), 조효소로 작용하고 (Meister, 1989), 반응성 산소종(ROS) 및 독성 이물질에 대한 방어작용을 나타낸다(Zeevalk *et al.*, 1997). 뇌는 많은 에너지를 요구하며, 거의 모든 필요한 에너지를 당의 산화적 대사에 의존하기 때문에 상당량의 반응성 산소종이 발생된다. 그러나 뇌는 비교적 낮은 항산화 방어시스템을 지니고 있기 때문에 산화적 스트레스에 취약한 것으로 알려져 있다. Glutathione은 뇌에서 ROS와의 직접적인 작

용 또는 효소-촉매 산화·환원 순환반응에 관여함으로써 산화적 스트레스에 대한 주요한 보호제로 작용한다. 다수의 연구에서 설치류 뇌의 총 glutathione의 함량은 나이가 들수록 감소하며, 늙은 설치류의 뇌는 과산화 스트레스에 보다 더 취약한 것으로 보고하고 있다. 또한 퇴행성 질환인 파킨슨 병과 알츠하이머병 환자 뇌의 glutathione 함량이 낮은 것으로 나타났다(Copper and Kristal, 1997).

카드뮴은 신장 및 중추신경계에서 ROS의 생성 촉진, glutathione의 함량 감소, 지방 과산화물의 생성 유발 등을 통하여 독성작용을 나타내는 것으로 간주되고 있다. 최근 카드뮴에 의해 초래되는 세포 내 여러 생리·생화학적 영향들이 알츠하이머병의 유발에 관련이 있다는 사실이 밝혀지고 있다. Kanski 등(2002), Arlt 등(2001) 및 Glabe (2001)는 반응성 산소종이 지방과산화, 단백질 산화 및 신경독성을 유발하며, 이는 알츠하이머병의 발병과 진행에 기여한다고 보고하였다.

4. Alzheimer's disease 관련 실험 결과

1) 카드뮴이 Na^+/K^+ ATPase activity에 미치는 영향

카드뮴(1-8 μM)을 농도별로 처리하고, 4시간 후에 세포를 수확하여 Na^+/K^+ ATPase의 활성에 미

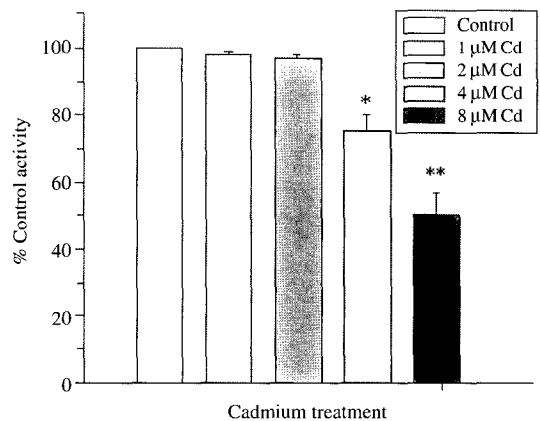


Fig. 4. Effect of cadmium on Na^+/K^+ ATPase activity in HT22 cell. Cadmium exposure of 4 μM led to a statistically significant decrease in Na^+/K^+ ATPase activity. Response are expressed as mean \pm S.E.M. for an average of four to six experiment.

Table 2. Contents of glutathione in HT22 cells treated with cadmium

Groups	Glutathione (n mole/mg protein)
Cd 0 μM (Control)	35.8 \pm 3.4
Cd 2 μM	29.8 \pm 4.7*
Cd 4 μM	21.2 \pm 4.9**
Cd 8 μM	17.5 \pm 4.1**

Results are Mean \pm S.E.M. for four individual treatment groups. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control group (Cd, 0 μM).

치는 영향을 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 카드뮴은 $4\mu\text{M}$ 부터 Na^+/K^+ ATPase의 활성을 현저히 저해하였다.

2) 카드뮴이 A β 의 aggregation에 미치는 영향

HT22 세포에 카드뮴을 농도별로 처리하고, 4시간 후에 배양액을 회수하여 원심분리 및 Congo red로 염색하여 편광현미경으로 A β 의 응집을 관찰하였다(Fig. 5). 카드뮴은 용량의존적으로 A β 의 무정형 응집(amorphous aggregation)을 증가시키는 것으로 조사되었다.

AD 환자 뇌에서의 주된 병리학적 지표 중의 하나는 많은 양의 β -amyloid를 함유한 senile plaques의 존재이다. β -amyloid는 신경독성적이며, 뇌신경배양 세포에서 신경사멸을 일으킨다(Mattson *et al.*, 1995). β -amyloid의 신경독성 기전으로는 지방과산화, 4-hydroxynonenal 생성, Na^+/K^+ ATPase 활성 저해 및 칼슘의 항상성 교란 등이 관여하는 것

으로 보고되고 있다(Mark *et al.*, 1995; Mark *et al.*, 1997; Mattson *et al.*, 1992). 본 연구에서 카드뮴은 $24\mu\text{M}$ 에서 뇌신경 세포를 완전히 사멸시켰으며, $8\mu\text{M}$ 에서 β -amyloid의 응집을 현저히 증가시켰다. 이러한 결과는 카드뮴의 신경계에 대한 독성기전에 β -amyloid의 응집의 관련성을 시사하고 있다.

한편, 카드뮴은 HT22 세포에서 Na^+/K^+ ATPase 활성을 용량의존적으로 감소시켰다. Na^+/K^+ ATPase의 활성 감소로 신경 내로 칼슘의 유입이 초래되고, 그 결과 신경의 퇴행으로 이어지는 것으로 생각된다(Mattson *et al.*, 1993; Volterra *et al.*, 1994; Mark *et al.*, 1995). Lovell 등(1999)은 일차 신경배양세포에서 저농도의 아연은 β -amyloid에 의한 독성을 현저히 저하시키는 작용이 있으며, 이는 아연에 의한 Na^+/K^+ ATPase 활성의 증가에 기인한다고 제안하였다. 따라서 카드뮴은 뇌신경세포에서 Na^+/K^+ ATPase 활성을 저해함으로써 AD의 촉발 및 진행에 관여할 수 있는 것으로 여겨진다.

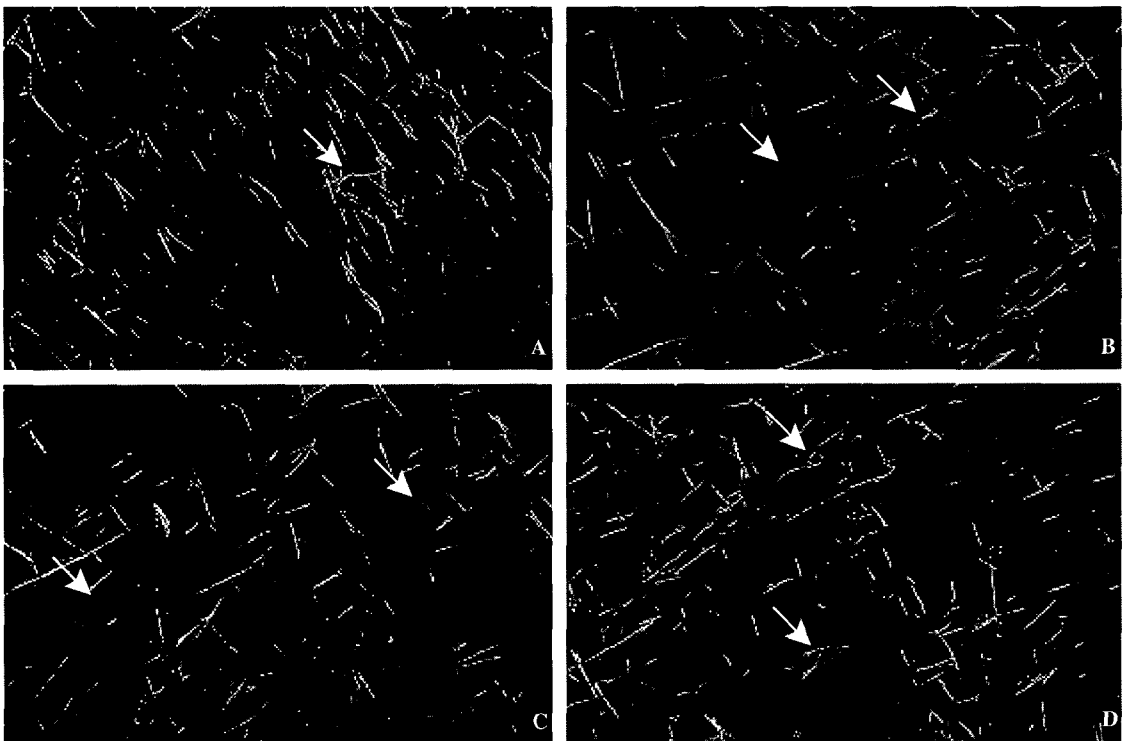


Fig. 5. Effect of cadmium on aggregation of β -amyloid in HT22 cell. Photomicrograph of Congo red-stained aggregation of β -amyloid viewed under for birefringence using polarized light microscopy. A, Control; B, $2\mu\text{M}$ Cd; C, $4\mu\text{M}$ Cd; D, $8\mu\text{M}$ Cd.

결 론

본 연구에서는 카드뮴의 중추신경계에 대한 독성작용 기전을 규명하고, Alzheimer's disease와의 관련성을 밝히고자 뇌신경 배양세포에서 카드뮴에 의한 산화적 스트레스의 증가작용을 관찰하고, 칼슘의 항상성에 중요한 역할을 하는 Na^+/K^+ ATPase의 활성 및 amyloid beta peptide ($\text{A}\beta$)의 응집에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 카드뮴은 HT22 세포의 생육을 용량의존적으로 억제하였으며, LC_{50} 와 LC_{50} 은 각각 $4.1 \mu\text{M}$ 과 $9.5 \mu\text{M}$ 로 나타났다.

2. HT22 세포에서 카드뮴을 농도별로 처리하였을 때 지방 과산화물의 함량은 용량의존적으로 증가하였다 ($p < 0.05$). 카드뮴 $8 \mu\text{M}$ 처리군에서 지방 과산화물의 함량은 대조군과 비교하여 약 3배 정도 증가하는 것으로 나타났다.

3. HT22 세포내의 glutathione 함량은 카드뮴에 의해 용량의존적으로 감소되었다 ($p < 0.01$). 카드뮴 $2 \mu\text{M}$ 을 처리하였을 때 glutathione 함량은 17% 정도 감소되었으며, $8 \mu\text{M}$ 의 경우는 51% 정도 감소하였다.

4. 카드뮴 ($1-8 \mu\text{M}$)을 농도별로 처리하고, 4시간 후에 세포를 수확하여 Na^+/K^+ ATPase의 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과 카드뮴은 $4 \mu\text{M}$ 부터 Na^+/K^+ ATPase의 활성을 현저히 저해하였다.

5. HT22 세포에 카드뮴을 농도별로 처리하고, 4시간 후에 배양액을 회수하여 원심분리 및 Congo red로 염색하여 편광현미경으로 $\text{A}\beta$ 의 응집을 관찰한 결과 카드뮴은 용량의존적으로 $\text{A}\beta$ 의 무정형 응집 (amorphous aggregation)을 증가시키는 것으로 관찰되었다.

이상의 결과에서 카드뮴의 중추신경계에 대한 독성작용은 산화적 스트레스 증가작용 및 Na^+/K^+ ATPase의 활성 감소작용에 기인하는 것으로 생각되며, 카드뮴에 의해 β -amyloid의 응집이 증가되는 것으로 보아 Alzheimer's disease의 촉발 또는 진행과도 관련이 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 차세대 환경핵심기술개발 사업(과제

번호 : 113010013) 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Abuja PM and Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins, *Clin. Chim. Acta* 2001; 306(1-2): 1-7.
- Adams J D Jr, Klaidman L K, Chang M L and Yang J. Brain oxidative stress-analytical chemistry and thermodynamics of glutathione and NADPH, *Curr. Top. Med. Chem.* 2001; 1(6): 473-482.
- Arlt S, Kontush A, Muller-Thomsen T and Beisiegel U. Lipid peroxidation as a common pathomechanism in coronary heart disease and Alzheimer's disease, *Gerontol. Geriatr.* 2001; 34(6): 461-465.
- Cantilena LR and Klaassen CD. Comparison of the effectiveness of several chelators after single administration on the toxicity, distribution and excretion of cadmium, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1981; 58: 452-460.
- Cooper AJL. *Glutathione in the brain*. In *The molecular and genetic basis of neurological disease*, 2ed., Rosenberg, R. N., Butterworth-Heinemann, 1997; pp. 1195.
- Copper AJL and Kristal BS. Multiple roles of glutathione in the central nervous system, *Biol. Chem.* 1997; 378: 793-802.
- Figueiredo-Pereira ME and Cohen G. The ubiquitin/proteasome pathway: friend or foe in zinc-, cadmium-, and H_2O_2 -induced neuronal oxidative stress, *Mol. Biol. Rep.* 1999; 26(1-2): 65-69.
- Glabbe C. Intracellular mechanisms of amyloid accumulation and pathogenesis in Alzheimer's disease, *Mol. Neurosci.* 2001; 17(2): 137-145.
- Grundman M. Vitamin E and Alzheimer disease: The basis for additional clinical trials, *Clin. Nutr.* 2000; 71(2) : 630-636.
- Johnson S. Gradual micronutrient accumulation and depletion in Alzheimer's disease, *Med. Hypotheses* 2001; 56(6): 595-597.
- Kanski J, Varadarajan S, Aksanova M and Butterfield DA. Role of glycine-33 and methionine-35 in Alzheimer's amyloid beta-peptide 1-42-associated oxidative stress and neurotoxicity, *Biochim. Biophys. Acta* 2002; 1586(2): 190-198.
- Karelson E, Bogdanovic N, Garlind A, Winblad B, Zilmer K, Kullisaar T, Vihalemm T, Kairane C and Zilmer M. The cerebrocortical areas in normal brain aging and in

- Alzheimer's disease: noticeable differences in the lipid peroxidation level and in antioxidant defense, *Neurochem. Res.* 2001; 26(4): 353–361.
- Kontush A, Mann U, Arlt S, Ujeyl A, Luhrs C, Muller-Thomsen T and Beisiegel U. Influence of vitamin E and C supplementation on lipoprotein oxidation in patients with Alzheimer's disease, *Free Radic. Biol. Med.* 2001; 31: 345–354.
- Kumar R, Agarwal A and Seth PK. Oxidative stress-mediated neurotoxicity of cadmium, *Toxicol. Letters*, 1996; 89: 65–69.
- Lovell MA, Chengsong Xie and Markesbery WR. Protection against amyloid beta peptide toxicity by zinc, *Brain Research* 1999; 823: 88–95.
- Lui E, Fisman M, Woung C and Diaz F. Metals and the liver in Alzheimer's disease. An investigation of hepatic zinc, copper, cadmium, and metallothionein, *Am. Geriatr. Soc.* 1990; 38(6): 633–639.
- Mark RJ, Hensley K, Butterfield DA and Mattson MP. Amyloid β -peptide impairs ion-motive ATPase activities: evidence for a role in loss of neuronal Ca^{2+} homeostasis and cell death, *J. Neurosci.* 1995; 15: 6239–6249.
- Mark RJ, Lovell MA, Markesbery WR, Uchida K and Mattson MP. A role for 4-hydroxynonenal, an aldehydic product of lipid peroxidation, in disruption of ion homeostasis and neuronal death induced by amyloid β -peptide, *J. Neurochem.* 1997; 68: 255–264.
- Mattson MP, Barger BW, Cheng B, Lieberburg I, Smith-Swintosky VL and Rydel RE. β -amyloid precursor protein metabolites and loss of neuronal Ca^{2+} homeostasis in Alzheimer's disease, *Trends Neurosci.* 1993; 16: 1409–414.
- Mattson MP, Cheng B, Davis D, Bryant K, Lieberburg I and Rydel RE. β -amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity, *J. Neurosci.* 1992; 12: 376–389.
- Mattson MP, Lovell MA, Furukawa K and Markesbery WR. Neurotrophic factors attenuate glutamate-induced accumulation of peroxides, elevation of intracellular Ca^{2+} concentration, and neurotoxicity and increase antioxidant enzyme activities in hippocampal neurons, *J. Neurochem.* 1995; 65: 1740–1751.
- Meister A. On the biochemistry of glutathione. In glutathione centennial. Molecular perspective and clinical implication, Taniguchi, N., Academic Press, 1989; pp. 3.
- Miki I and Teruo M. Do conjugated eicosapentaenoic acid and conjugated docosahexaenoic acid induce apoptosis via lipid peroxidation in cultured human tumor cells?, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 270: 649–656.
- Panayi Ae, Spyrou NM, Iversen BS, White MA and Part P. Determination of cadmium and zinc in Alzheimer's brain tissue using inductively coupled plasma mass spectrometry, *Neurol. Sci.* 2002; 195(1): 1–10.
- Pitchumoni SS and Doraiswamy PM: Current status of antioxidant therapy for Alzheimer's Disease, *J. Am. Geriatr. Soc.* 1998; 46(12): 1566–1572.
- Raj K, Ashok KA and Prahlad KS. Oxidative stress-mediated neurotoxicity of cadmium, *Toxicology Letters* 1996; 89: 65–69.
- Risso-de Faverney C. Cadmium induces apoptosis and genotoxicity in rainbow trout hepatocyte through generation of reactive oxygen species, *Aquat. Toxicol.* 2001; 53(1): 65–76.
- Rohn TT, Hinds TR and Vincenzi FF. Ion transport ATPase as targets for free radical damage. Protection by an aminosteroid of Ca^{+} pump ATPase and Na^{+} - K^{+} pump ATPase of human red blood cell membrane, *Biochem. Pharmacol.* 1993; 46: 249–259.
- Rottkamp CA, Nunomura A, Hirai K, Sayre LM, Perry G and Smith MA. Will antioxidants fulfill their expectations for the treatment of Alzheimer disease?, *Mech. Ageing Dev.* 2000; 116: 169–179.
- Schippling S, Kontush A, Arlt S, Buhmann C, Sturenburg HJ, Mann U, Muller-Thomsen T and Beisiegel U.: Increased lipoprotein oxidation in Alzheimer's disease, *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28: 351–160.
- Szuster-Ciesielska A. The inhibitory effect of zinc on cadmium-induced cell apoptosis and reactive oxygen species production in cell cultures, *Toxicology* 2000; 145(2–3): 159–171.
- Tietze F. Enzymatic method for quantitative determination of glutathione. *Analyt. Biochem.* 1969; 27: 502–522.
- Volterra A, Trotti D, Tromba C, Floridi S and Racagni G. Glutamate uptake inhibition by oxygen free radicals in rat cortical astrocytes, *J. Neurosci.* 1994; 14: 2924–2932.
- Wong KL and Klaassen CD. Neurotoxic effects of cadmium in young rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1982; 63: 330–337.
- Wong KL and Klaassen CD. Tissue retention of cadmium in rats during postnatal development, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1980; 53: 343–353.
- Zeevalk GD, Bernard LP, Albers DS, Microhntchenko O, Nicklas WJ and Sonsalla P. Energy stress-induced dopamine loss in glutathione peroxidase-overexpressing transgenic mice and in glutathione-depleted mesencephalic cultures, *J. Neurochem.* 1997; 68: 426–429.