

# 牛膝 메탄올 추출물이 흰쥐의 카드뮴 흡입독성완화에 미치는 영향

강홍구<sup>1</sup> · 홍지우<sup>1</sup> · 한현정<sup>1</sup> · 황유연<sup>1</sup> · 정재열<sup>2</sup> · 이기남<sup>2\*</sup>

1: 원광대학교 대학원 한의학과, 2: 원광대학교 한의학전문대학원 제3의학과

## Effects of Methanol Extract of Radix Achyranthis Bidentatae on Cadmium Inhalation Toxicity in Rat

Hong Gu Kang<sup>1</sup>, Ji Woo Hong<sup>1</sup>, Hyun Jung Han<sup>1</sup>, Yoo Yeon Hwang<sup>1</sup>, Jae Yeal Jeong<sup>2</sup>, Ki Nam Lee<sup>2\*</sup>

1: Department of Oriental Medicine, Graduate School, Wonkwang University,

2: Department of Third Medicine, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

To study the effects between Cd inhalation toxicity and methanol extract of Radix Achyranthis Bidentatae, 4 rat groups were exposed to Cd aerosol by whole-body inhalation exposure for 6 hours/day, 5 days/week, and 4 weeks. Cd concentration in air was 0.98mg/m<sup>3</sup> and mass median diameter(MMD) was 1.78μm. 3 different dose intraperitoneal injections of methanol extract of Radix Achyranthis Bidentatae to 3 inhalation exposure groups applied for 4 weeks and the results were as follows: The highest body weight gain for 4 weeks and food intake per day were from inhalation exposure group III(p<0.05). The highest lung weight was from inhalation exposure group III and the highest liver and kidney weight were from inhalation exposure group II(p<0.05). The lowest Cd content in lung was 22.77μg/g from inhalation exposure group III(p<0.05). The highest Cd concentration in blood was 11.71μg/dl from inhalation exposure group I(p<0.05). Cd concentrations of 14.87μg/g in liver and 17.91μg/g in kidney were the highest from inhalation exposure group I(p<0.05). The lowest Cd concentration in liver and kidney were 5.71μg/g and 3.17μg/g from the control(p<0.05). For weekly Cd concentration in urine, the highest value was 0.48μg/ml from inhalation exposure group III of the 3rd week and inhalation exposure group I, II of the 4th week. For weekly Cd concentration in feces, the highest value was 0.32μg/g from inhalation exposure group I, II, III. The highest metallothionein concentration in lung was 89.02μg/g from inhalation exposure group III(p<0.05). The highest metallothionein concentrations in liver and kidney were 265.47μg/g and 214.21μg/g from inhalation exposure group III, respectively(p<0.05). The highest Hct, Hb, and WBC values were from inhalation exposure group II and the highest RBC value was from inhalation exposure group III(p<0.05). Mostly damaged part in liver tissue was hepatic lobule and the degrees of damage were lessened by the intraperitoneal injection of methanol extract of Radix Achyranthis Bidentatae. Proximal, distal convoluted tubules and glomerulus in kidney tissue were mostly damaged part. Degeneration and swelling were partially observed but the degrees of kidney tissue damage were lessened more or less by the intraperitoneal injection of methanol extract of Radix Achyranthis Bidentatae.

Key words : Radix Achyranthis Bidentatae, RBC value, Cd concentration

### 서론

중금속인 카드뮴(Cd)은 산업적으로 전지, 금속도금, 페인트,

플라스틱에 많이 함유되어있다. 중요한 산업적, 환경적 오염물질이다. 인간이 Cd에 폭로되는 일차적인 경로는 오염된 공기를 호흡하는 것인데, Cd는 화석연료나 금속광의 제련을 통해 공기중으로 끊임없이 방출되고 있다<sup>1)</sup>.

급성중독은 카드뮴 분진과 흡(일반적으로 산화 카드뮴)의 흡입 그리고 카드뮴 염의 섭취에서 비롯된다. 초기의 독성영향은 국소적인 자극 때문이다. 경구섭취의 경우에 구역질, 구토, 타액

\* 교신저자 : 이기남, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학

· E-mail : kinam1@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6836

· 접수 : 2004/10/04 · 수정 : 2004/11/08 · 채택 : 2004/12/05

분비과다, 설사 및 복부경련 등이 나타나는데 구토와 설사는 대개 혈흔이 있다. 단기간 흡입했을 때 카드뮴은 독성이 강한데 수시간 내에 나타나는 증상은 강한 호흡기 자극, 초기 폐렴, 흉통, 구역질, 현기증 및 설사이다. 독성은 기관지 및 혈관주위의 섬유화를 동반하는 치명적인 폐종양 또는 폐기종으로 진행된다<sup>2,6)</sup>.

산업장에서 카드뮴과 그 화합물을 다루는 작업자의 흡입에 의한 카드뮴 중독은 효과적으로 치료하기가 어려워 킬레이트 요법이 추천되고 있으나 일부의 킬레이트제는 신장독성으로 인해 사용이 엄격히 제한되며 카드뮴에 노출된 후 즉시 투여되었을 때 효과가 있고 만성적으로 노출되었을 때는 그 효과가 급속히 감소된다<sup>7,8)</sup>. WHO는 직업적 카드뮴 중독에 대해 특별한 의학적 치료방안이 없다고 하며 공학적, 의학적 예방의 중요성을 강조하고 있다<sup>9)</sup>.

본 연구와 관련된 최근까지의 연구는 柿葉<sup>10)</sup>, 桑葉<sup>11)</sup>과 魚腥草<sup>12)</sup> 추출물을 이용한 연구가 있을 뿐이며 이들 연구자들은 카드뮴의 흡입노출과 이에 따른 독성완화에 한약재 추출물 투여 연구의 중요성을 언급하였다.

이에 본 연구는 한의학에서 苦·酸, 平 無毒하고 肝·腎에 二經 작용하고 活血祛瘀·通利關節·引血引火下行·補肝腎·強腰膝 등의 효능이 있는 牛膝(Radix Achyranthis Bidentatae)을 문헌고찰과 예비실험 과정을 거쳐 선정하였고<sup>13,14)</sup> 선행한 김 등<sup>15)</sup>의 연구를 참고하였다. 카드뮴 에어로졸에 대한 흡입노출 조건은 정 등<sup>16)</sup>의 연구조건을 이용하였고 카드뮴 에어로졸에 흡입노출된 흰쥐의 혈액을 포함한 폐, 간장, 신장의 카드뮴 농도, 폐, 간장, 신장의 metallothionein 농도, 배설의 지표인 소변과 대변 카드뮴 농도와 흡입독성학의 기본적 평가요소인 식이섭취량, 체중증가량, 장기의 무게, 및 혈구용적치, 헤모글로빈, 적혈구, 백혈구와 같은 혈액학적 변수에 대해서도 조사하였다. 이와 더불어 간장과 신장의 조직학적 관찰을 통해 牛膝 methanol 추출물의 카드뮴 흡입노출에 대한 독성완화효과를 실험하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

50마리 웅성(200-220g) Sprague-Dawley CD 흰쥐를 이용하였다. 흡입노출 전에 최소 10일 동안 흰쥐를 실험실 환경에 적응시켰고 실험을 위해 각각 10마리씩 정상군, 대조군, 처리군 I, II, III에 대해 무작위로 5개 그룹으로 분류하였다. 모든 흰쥐들은 12시간 조명주기로 22±1℃와 50% 습도로 제어되는 룸에 살게 하였다. 삼양유지사료(주)의 마우스(쥐)용 배합사료 그리고 1차 증류수는 흡입노출 동안을 제외하고 자유로이 공급하였다.

#### 2) 검액의 조제

牛膝(경북 영천에서 가을에 채취한 뿌리를 건조하여 이용)은 건조시킨 후 분쇄기로 마쇄하여 분말로 만들었고 둥근플라스크에 牛膝분말과 분말의 용량 5배에 해당하는 Methanol(M3641, Sigma)를 첨가하여 50℃ 수욕조에서 진탕시키면서 24시간 동안 3회 추출하였다. 추출 후 5000g에서 30분간 원심분리시킨 다음,

여과하여 회전 농축기에서 감압하여 농축하였고 그 후 동결 건조기에서 -40℃에서 3일간 완전히 건조시켜 추출물 12.8g(수율 10.3%)을 얻었으며 이를 필요에 따라 3차 증류수로 용해하여 복강투여용 검액으로 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 설계

카드뮴 대조군과 처리군의 챔버내 카드뮴 에어로졸의 농도는 1mg/m<sup>3</sup> 그리고 질량중위수직경(Mass Median Diameter: MMD)은 1.64μm로 설정하였으며 카드뮴 에어로졸 흡입노출과 검액의 복강내 투여를 각각 4주간 수행하였다(Table 1). 흰쥐들은 흡입챔버 밖에 있는 동안에는 흰쥐 사육 케이지에, 흡입챔버에 있는 동안에는 10마리를 그룹으로 하여 카드뮴 에어로졸에 흡입노출시켰다. 1주일에 1회 소변과 대변 시료의 채취를 위해 대사 케이지를 사용하였으며 사용하기 전에 카드뮴 오염을 감소시키고자 증류수로 세정한 후 10% 질산으로 세척하여 사용하였다<sup>18)</sup>.

Table 1. Group Classification and Design on Inhalation Exposure and Treatment of Methanol Extracts of Radix Achyranthis Bidentatae

Groups	N	Cd Concentration in Air(mg/m <sup>3</sup> )	MMDa of Cd Aerosol(μm)	Dosage(mg/kg)
Normal	10	0	-	-
Control	10	1	1.64	Saline Only
Treated I	10	1	1.64	20
Treated II	10	1	1.64	40
Treated III	10	1	1.64	80

aMass Median Diameter.

#### 2) 카드뮴 에어로졸 흡입노출

대조군과 처리군에 대한 카드뮴 에어로졸의 흡입노출은 1일 6시간, 1주 5일, 및 4주간 수행하였다. 흡입노출 실험동안 흰쥐가 머물러 있었던 스테인레스 스틸로된 흡입노출 챔버는 전체 용적 0.66m<sup>3</sup>이었고 유효용적은 0.50m<sup>3</sup>이었으며 설정된 노출농도를 발생시키고자 여러 가지 유량에서 동력학적으로 작동하였다.

유입공기의 입자제거를 위한 입자상 필터가 장착된 챔버, ultrasonic nebulizer 원리를 이용하는 에어로졸 발생기, 4개의 팬으로 구성된 배합챔버, 스테인레스 스틸로 제작된 흡입(노출)챔버(상방 흡입, 하방 배출), 배출되는 공기를 정화하기 위한 HEPA 필터가 장착된 챔버로 구성되어 있으며 공기의 이동과 용량 조절은 HEPA 필터가 장착된 챔버에서 송풍기와 댐퍼를 이용하여 이루어졌다(Fig. 1). 에어로졸 발생기에서 네블라이징되는 용액의 온도는 70℃이었고 주 닥터로 유입되기 전의 입구 덕터의 온도는 20℃이었다<sup>16)</sup>. 흡입노출 챔버내의 카드뮴의 공기중 농도와 그 변화를 관찰하고자 1주일에 5회 NIOSH 분석방법 P&CAM 173에 기초하여 개인시료포집기(224-PCXR8, SKC)를 이용하여 흡입노출챔버 내의 공기시료가 포집되었고 시료포집유량은 1.5LPM(Liter Per Minute)으로 필터는 cellulose ester membrane 필터(225-5, SKC)를 이용하였다. 카드뮴 에어로졸의 입자크기분포(particle size distribution)와 입자의 크기는 5 채널 입자 카운터(Particle Counter KC-01C, Rion)를 이용하였다. 각각의 입자 직경에 대한 계수는 수동모드에서 5초 동안 동시에 공기

용적 0.042 l에 대해 수행하였으며 10회 반복측정하여 카드뮴 입자에 대한 분석자료로 이용하였다. 측정된 각 입경별 계수는 Hinds<sup>19)</sup>가 제시하는 아래의 공식을 이용하여 기하평균입경, 기하표준편차, 및 MMD를 계산하였다.

$$\log d_g = \frac{\sum n_i \log d_i}{\sum n_i}$$

dg: 기하평균입경,  $\mu\text{m}$  / ni: 입자계수 / di: 대표경,  $\mu\text{m}$

$$\log \sigma_g = \left[ \frac{\sum n_i (\log d_g - \log d_i)^2}{\sum n_i - 1} \right]^{1/2}$$

og: 기하표준편차 / dg: 기하평균입경,  $\mu\text{m}$  / ni: 입자계수 / di: 대표경,  $\mu\text{m}$

$$\log d_{mmd} = \log d_g + 6.9 \log^2 \sigma_g$$

dmm: MMD,  $\mu\text{m}$  / dg: 기하평균입경,  $\mu\text{m}$  / og: 기하표준편차

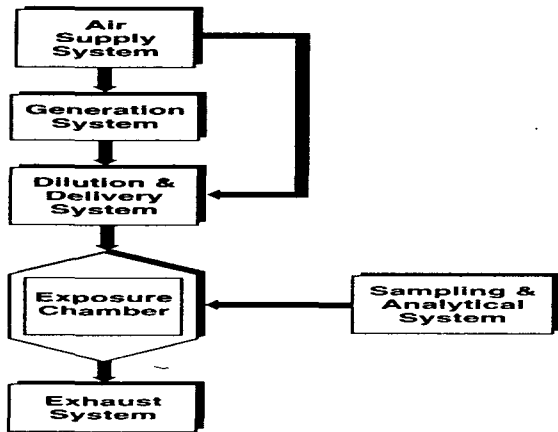


Fig. 1. Inhalation exposure system for cadmium aerosol.

카드뮴 에어로졸에 대한 흰쥐의 흡입暴露 실험이 진행되는 동안에 흰쥐가 흡입暴露된 카드뮴 에어로졸의 기하평균직경, 기하표준편차, MMD 및 공기중 농도와 각각에 대한 변이계수는 그림 2, 3, 4 및 5와 같다. 카드뮴 에어로졸 기하평균입경은 0.85 $\mu\text{m}$ , 기하표준편차는 1.64, MMD는 1.78 $\mu\text{m}$ 이었고 공기중 카드뮴 농도는 0.98mg/m<sup>3</sup>이었다. 변이계수는 기하평균입경의 경우 4.43, 기하표준편차의 경우 3.30, MMD의 경우 8.87, 및 공기중 카드뮴 농도의 경우 10.71이었다.

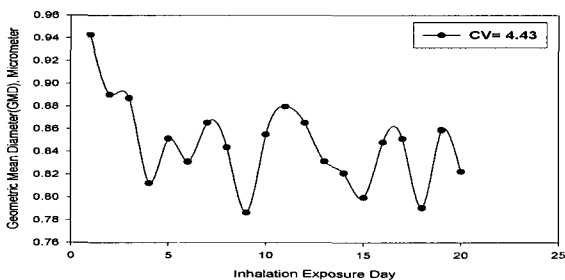


Fig. 2. Geometric mean diameter and its coefficient of variation.

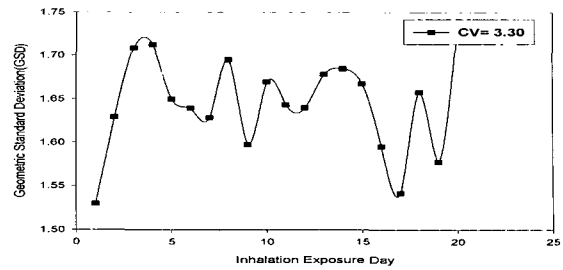


Fig. 3. Geometric standard deviation and its coefficient of variation.

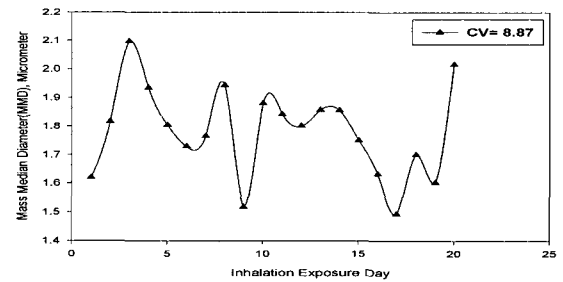


Fig. 4. Mass median diameter and its coefficient of variation.

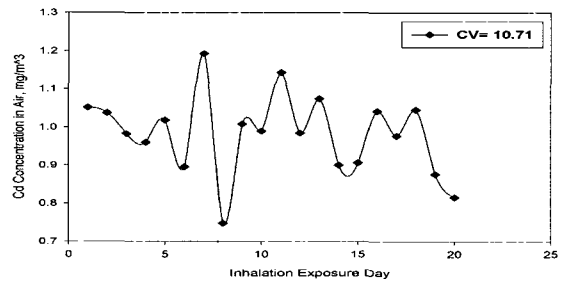


Fig. 5. Variation of cadmium concentration in air and its coefficient of variation.

### 3) 분석방법

4주간의 흡입暴露에서 얻어진 공기는 전처리 과정을 거쳐 카드뮴 함량에 대해 분석하였다. 소변과 대변은 흡입暴露시킨 후 매주 토요일에 대사 케이지 및 관련된 도구를 이용하여 채취하였고 카드뮴 함량에 대해 분석하였다. 소변의 용적과 대변의 중량은 각각의 농도 계산을 위해 기록하였다. 흡입暴露와 검액의 투여 실험종료 마지막 날에 정상군, 대조군 및 흡입 폭로군은 에테르 마취하에 복부 대동맥으로부터 해파린 처리된 시험관에 혈액을 채취하였고 폐, 간장, 및 신장을 분리하여, 폴리에틸렌 바이알에 패키시켜 전처리를 수행하기 전까지 냉장고에 보관하였다.

#### (1) 공기

필터와 공시료의 전처리와 분석은 P&CAM 173에 기초하여 진행하였다. 필터와 공시료는 깨끗한 125ml 비이커에 옮기고 6.0 ml 질산을 넣는다. 각 비이커를 시계접시로 덮고 시료가 용해되어 약간 노란 용액이 형성될 때까지 흡 후드에서 표면온도가 165 °C인 hotplate에서 가열시킨다. 회화가 완료되면, 시계접시를 제거하고, 10% HNO<sub>3</sub>로 필터 및 공시료 비이커를 행군다. 그리고 난 다음 비이커를 100 °C 스팀 욕조에 넣고 건조되게 한다. 일단 건조되고 난 후에, 10% HNO<sub>3</sub> 3-5ml로 비이커의 벽을 행구고 잔

류물의 용해를 위해 100℃에서 5분간 재가열한다. 이 용액은 10% HNO<sub>3</sub>와 함께 정량적으로 10ml 용량 플라스크에 옮기고 10% HNO<sub>3</sub>로 용량까지 희석한다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. 필터에서 카드뮴의 농도계산은 아래와 같다.

$$\mu\text{g cadmium}/\text{m}^3 = \frac{(C \times V_A) - B}{V \times F}$$

(2) 혈액, 조직, 및 대변의 카드뮴

혈액 및 조직의 전처리와 분석은 NIOSH 분석방법 800520)에 의해 혈액 10g, 습한 조직(폐, 간, 신장) 1.0g을 옮기고 혈액에 10ml digestion acid 또는 각각의 조직에 5.0ml digestion acid를 넣었다. 대변은 110℃ 건조기에서 항량이 될 때까지 건조시켜서 550℃ muffle furnace에서 회화시켜 1g을 이용하였다. 2시간 동안 110℃에서 가열하였고 시약 공시료(reagent blanks)와 같이 시작하였다. 250℃까지 hotplate의 온도를 올리고 1ml(혈액) 또는 0.5 ml(조직)가 남을 때까지 가열하였다. 그리고 용량 플라스크(혈액에 대해 10ml; 조직에 대해 5ml)로 비이커에 들어있는 내용물을 옮기고 탈이온수로 눈금선까지 희석하였다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. 각 금속에 대해 측정된 용액농도, Cs(μg/ml)에 평균 공시료 수치, Cb(μg/ml)를 고려하여 농도를 계산하였고 혈액에 대해서는 μg/ml, 폐, 간, 신장, 장, 그리고 대변에 대해서는 μg/g으로 환산하였다.

$$C = \frac{CsVs - CbVb}{M} \quad \mu\text{g}/\text{g}$$

(3) 소변중 카드뮴

1ml의 소변을 digestion tube에 옮기고 0.2ml 질산을 넣고 digestion tube를 heating block에 넣어 약 3시간 동안 비점 이하의 온도에서 회화시켰다. 용량이 약 1/3으로 감소되었을 때, 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.4ml를 넣고 증발되어 거의 건조될 때까지 계속 가열하였다. 다음에 digestion tube를 냉각시킨 후 잔유물을 1% 질산에 용해시켰고 분석에는 20μl씩 주입하였다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. 용액의 농도, 및 분석자료에서 공시료 평균, Cs(μg/ml), Cb(μg/ml)를 계산하였다. 소변 용액의 용적, Vs(ml), 그리고 공시료의 용적, Vb(ml)를 이용하여, 채집된 소변의 용적, V(ℓ)에서 각각의 금속 농도, C(μg/ml)를 계산하였다.

$$C = \frac{CsVs - CbVb}{V} \times 10^3 \quad \mu\text{g}/\text{ml}$$

(4) 폐, 간장, 및 신장의 metallothionein

일정량의 폐, 간장, 및 신장 조직을 동일한 부피의 10mM Tris-HCl buffer(pH 7.4, 4℃)로 균질화 시키고 10,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 다음에 boiling water bath에서 2분간 가열하고 냉각시킨 후 4℃로 유지하면서

10,000rpm에서 2분간 원심분리하여 상층액(cytosol)을 얻고 cytosol에 0.26mM CdCl<sub>2</sub> 용액을 첨가한 후 수분간 방치하여 metallothionein을 포화시켰다. 여기에 냉장보관하였던 RBC hemolysate를 첨가하고 95℃ boiling water bath에서 2분간 가열하고 냉각시켰다. 이후 10,000rpm에서 다시 2분간 원심분리하였다. 위의 열처리 원심분리를 1회 반복한다. 상층액을 취하여 카드뮴 농도를 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)를 이용하여 분석하였다. 분석시 조건으로 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. Metallothionein과 카드뮴의 몰비가 1:7임을 고려하여 조직내 metallothionein의 농도를 조직 g당 μg metallothionein으로 계산하였다<sup>21)</sup>.

4) 혈액학적 분석

Hematocrit의 측정은 헤파린 처리한 모세관(Heparinized Micro Hematocrit tube 73810, Kimble)에 혈액을 넣어 12,000rpm에서 15분간 원심분리(Micro Hematocrit Centrifuge HA200, Hanil) 한 후 전혈액량에 대한 packed linear scale로 측정하였으며 Hb, RBC, 및 WBC은 자동혈구계산기(K1000, Sysmax Co)를 이용하였다.

5) 조직학적 관찰

간장과 신장 조직은 정상군, 대조군, 및 처리군에서 분리되었고 10% 포르말린 버퍼에 즉시 넣었다. 간장과 신장 조직의 일부는 파라핀으로 임베딩하였고 광학 현미경적인 평가를 위해 hematoxylin과 eosin으로 염색하였다<sup>22)</sup>.

6) 통계학적 분석

자료는 윈도우용 SPSS/PC + 8.0을 이용하여 분석하였고 평균과 표준편차로 요약하였다. 성적에 대한 그래프의 작성은 SigmaPlot 8.0을 이용하였다. 자료의 통계학적 유의성 검정은 α = 0.05 수준에서 One-Way ANOVA 및 Duncan's Multiple Range Test를 이용하였다.

결 과

1. 사료 섭취량 및 체중 증가량

식이 섭취량과 체중 증가량은 Table 2와 같다. 하루의 식이 섭취량은 정상군이 22.01g이었고 대조군에 비하여 처리군 III, I, II 순으로 유의성있게 증가하였다(p<0.05). 4주 동안의 체중증가량은 정상군이 187.75g이었고 대조군에 비하여 처리군 III, I, II 순으로 유의성있게 증가하였다(p<0.05).

Table 2. Food Intakes, and Body Weight Gains

Group	N	Food Intake(g/day)	Body Weight Gain(g/4Weeks)
Normal	10	22.01±4.61	187.75±37.75
Control	10	13.15±1.13 <sup>ab</sup>	120.13±7.66 <sup>ab</sup>
Treated I	10	19.16±3.45	158.08±26.55
Treated II	10	19.09±4.46	155.72±22.69
Treated III	10	19.50±1.47	160.75±23.22

Control: Saline only + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, \*p<0.05 by One-Way ANOVA, <sup>a</sup>p<0.05 Compared to Treated II, I, III by Duncan's Multiple Range Test.

2. 폐, 간장, 및 신장의 무게

폐, 간장, 그리고 신장의 무게는 Table 3과 같다. 정상군의 폐 무게는 1.44g이었고 대조군에 비하여 처리군 III, I, II 순으로 유의성있게 증가하였다(p<0.05). 정상군의 간장 무게는 10.03g이었고 대조군에 비하여 처리군 II, III, I 순으로 유의성있게 증가하였다(p<0.05). 정상군의 신장 무게는 1.62g이었고 대조군에 비하여 처리군 II, I, III 순으로 유의성있게 증가하였다(p<0.05).

Table 3. Weights of Lung, Liver, and Kidney (Unit: g)

Group	N	Lung	Liver	Kidney
Normal	10	1.44±0.19	10.03±2.29	1.62±0.31
Control	10	1.01±0.12	8.51±0.69 <sup>ab</sup>	1.28±0.10 <sup>ac</sup>
Treated I	10	1.29±0.44	10.01±1.84	1.57±0.20
Treated II	10	1.12±0.36	10.54±1.28	1.58±0.19
Treated III	10	1.33±0.46	10.52±1.64	1.55±0.30

Control: Saline only + Cd 1mg/ml, Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/ml, Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/ml, Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/ml. <sup>a</sup>p<0.05 by One-Way ANOVA, <sup>b</sup>p<0.05 Compared to Treated I, II by Ducan's Multiple Range Test, <sup>c</sup>p<0.05 Compared to Treated III, I, II by Ducan's Multiple Range Test.

3. 폐의 카드뮴 농도

폐에서 카드뮴을 분석한 결과와 95% 신뢰구간은 Table 4와 같다. 정상군의 폐내에서 카드뮴의 함량은 0.08µg/g이었고 대조군에 비하여 처리군 III, II, I 순으로 유의성있게 감소하였다(p<0.05).

Table 4. Cadmium Concentrations in Lung (Unit: µg/g)

Group	N	Cd Concentration	95% Confidence Interval
Normal	10	0.08±0.02	0.07~ 0.09
Control	10	91.08±17.73 <sup>ab</sup>	78.39~103.76
Treated I	10	31.55±7.16	26.42~ 36.67
Treated II	10	29.46±7.82	23.87~ 35.05
Treated III	10	22.77±6.33	18.24~ 27.30

Control: Saline only + Cd 1mg/ml, Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/ml, Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/ml, Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/ml. <sup>a</sup>p<0.05 by One-Way ANOVA, <sup>b</sup>p<0.05 Compared to Treated III, II, I by Ducan's Multiple Range Test.

4. 혈액, 간장, 및 신장의 카드뮴 농도

혈액, 간장, 그리고 신장에서 카드뮴 함량을 분석한 결과는 Table 5 및 Fig. 6과 같다. 정상군의 혈액 카드뮴 농도는 0.04µg/dl 이었고 대조군에 비하여 처리군 I, III, II 순으로 유의성있게 증가하였다(p<0.05). 정상군의 간장중 카드뮴 농도는 0.02µg/g이었고 대조군에 비하여 처리군 I, III, II 순으로 유의성있게 증가하였다(p<0.05). 정상군의 신장중 카드뮴 농도는 0.01µg/g이었고 대조군에 비하여 처리군 I, III, II 순으로 유의성있게 증가하였다(p<0.05).

Table 5. Cadmium Concentrations in Blood, Liver, and Kidney

Group	N	Blood(µg/dl)	Liver(µg/g)	Kidney(µg/g)
Normal	10	0.04±0.01	0.02±0.00	0.01±0.00
Control	10	3.75±0.73 <sup>ab</sup>	5.71±1.13 <sup>ab</sup>	3.17±0.31 <sup>ab</sup>
Treated I	10	11.71±3.19	14.87±3.37	17.91±2.34
Treated II	10	10.13±3.77	13.05±1.76	15.59±2.28 <sup>c</sup>
Treated III	10	11.55±3.39	13.86±3.28	16.22±1.84

Control: Saline only + Cd 1mg/ml, Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/ml, Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/ml, Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/ml. <sup>a</sup>p<0.05 by One-Way ANOVA, <sup>b</sup>p<0.05 Compared to Treated I, II, III by Ducan's Multiple Range Test, <sup>c</sup>p<0.05 Compared to Treated I by Ducan's Multiple Range Test.

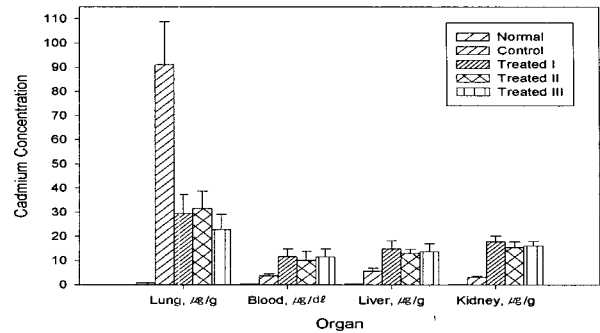


Fig. 6. Cadmium concentration in lung, blood, liver, and kidney.

5. 소변과 대변에서 주별 카드뮴 농도

뇨에서 카드뮴을 분석한 결과는 Table 6 그리고 4주간의 뇨 중 카드뮴 배설 양상은 Fig. 7과 같다. 주별 뇨중으로 배설되는 카드뮴의 농도를 비교해 보면 1주째는 대조군에 비하여 처리군 II에서 0.44µg/ml, 2주째는 처리군 III에서 0.47µg/ml로 높았다(p<0.05). 3주째는 대조군에 비하여 처리군 III에서 0.48µg/ml, 4주째는 처리군 I과 II에서 0.48µg/ml로 높았다(p<0.05).

Table 6. Cadmium Concentrations in Urine by the Week (Unit: µg/ml/ure)

Group	N	The Week			
		1st	2nd	3rd	4th
Normal	10	0.02±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01
Control	10	0.19±0.01 <sup>ab</sup>	0.19±0.01 <sup>ac</sup>	0.19±0.03 <sup>bd</sup>	0.18±0.03 <sup>ab</sup>
Treated I	10	0.42±0.04	0.45±0.06	0.46±0.03	0.48±0.04
Treated II	10	0.44±0.05	0.45±0.05	0.46±0.04	0.48±0.03
Treated III	10	0.43±0.04	0.47±0.03	0.48±0.05	0.46±0.05

Control: Saline only + Cd 1mg/ml, Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/ml, Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/ml, Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/ml. <sup>a</sup>p<0.05 by One-Way ANOVA, <sup>b</sup>p<0.05 Compared to Treated I, II, III by Ducan's Multiple Range Test, <sup>c</sup>p<0.05 Compared to Treated II, I, III by Ducan's Multiple Range Test.

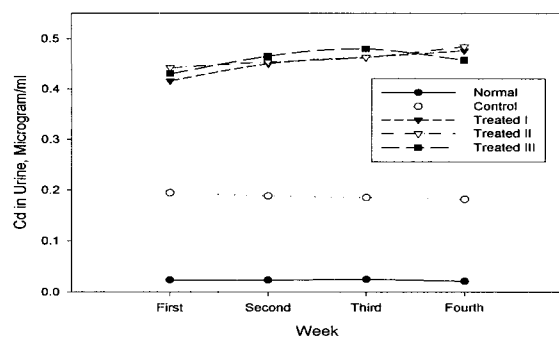


Fig. 7. Cadmium level in urine for 4 weeks.

대변에서 카드뮴을 분석한 결과와 4주간의 대변중 카드뮴 배설 양상은 Table 7 및 Fig. 8과 같다. 주별 대변중으로 배설되는 카드뮴의 농도를 비교해 보면 1주째는 대조군에 비하여 처리군 I, II 및 III에서 0.23µg/g으로 공히 높았고 2주째는 처리군 I, III에서 0.20µg/g으로 공히 높았다(p<0.05). 3주째는 대조군에 비하여 처리군 I, III에서 0.19µg/g으로 높았고 4주째는 처리군 II, III에서 0.15µg/g으로 높았다(p<0.05).

Table 7. Cadmium Concentrations in Feces by the Week (Unit:  $\mu\text{g/g}$ )

Group	N	The Week			
		1st	2nd	3rd	4th
Normal	10	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.01	0.01±0.01
Control	10	0.13±0.04 <sup>ab</sup>	0.09±0.03 <sup>ab</sup>	0.11±0.04 <sup>ab</sup>	0.09±0.03 <sup>bc</sup>
Treated I	10	0.23±0.03	0.20±0.03	0.19±0.04	0.14±0.03
Treated II	10	0.23±0.03	0.19±0.02	0.18±0.01	0.15±0.04
Treated III	10	0.23±0.02	0.20±0.04	0.19±0.03	0.15±0.04

Control: Saline only + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, \*p<0.05 by One-Way ANOVA, <sup>a</sup>p<0.05 Compared to Treated II, I, III by Duncan's Multiple Range Test, <sup>b</sup>p<0.05 Compared to Treated I, II, III by Duncan's Multiple Range Test.

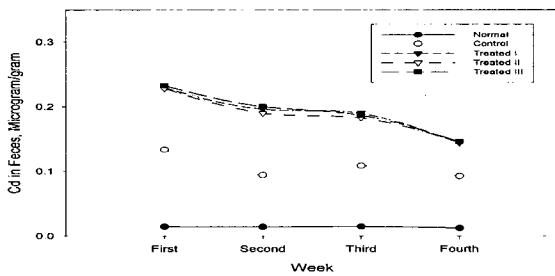


Fig. 8. Cadmium level in feces for 4 weeks.

6. 폐, 간장, 및 신장에서 metallothionein의 농도

폐, 간장, 그리고 신장에서 metallothionein을 분석한 결과는 Table 8 및 Fig. 9와 같다. 폐에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 3.74 $\mu\text{g/g}$ 이었고 대조군에 비하여 처리군 III, I, II 순으로 유의성있게 높았다(p<0.05). 간장에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 9.74 $\mu\text{g/g}$ 이었고 대조군에 비하여 처리군 III, II, I 순으로 유의성있게 높았다(p<0.05). 신장에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 10.55 $\mu\text{g/g}$ 이었고 대조군에 비하여 처리군 III, II, I 순으로 유의성있게 높았다(p<0.05).

7. Hb, Hematocrit, RBC 및 WBC

혈액에서 Hb, hematocrit, RBC, 그리고 WBC를 분석한 결과는 Table 9와 같다. Hb는 정상군에서 14.21g/dl이었고 대조군에 비하여 처리군 II, I, III 순으로 유의성있게 높았다(p<0.05). Hematocrit은 정상군에서 45.28%이었고 대조군에 비하여 처리군 II, I, III 순으로 증가하였으나 유의성은 없었다. RBC는 정상군에서 8.11 $\times 10^6/\text{mm}^3$ 이었고 처리군 III, II, I 순으로 유의성있게 높았다(p<0.05). WBC는 정상군에서 9.62 $\times 10^3/\text{mm}^3$ 이었고 대조군에 비해 처리군 II에서만 수치적인 증가가 있었으나 유의성은 없었다.

Table 8. Metallothionein Concentrations in Lung, Liver, and Kidney (Unit:  $\mu\text{g/g}$ )

Group	N	Lung	Liver	Kidney
Normal	10	3.74 : 1.17	9.74 : 2.12	10.55 : 4.11
Control	10	18.97 : 3.28 <sup>ab</sup>	39.18 : 21.83 <sup>bc</sup>	33.64 : 8.81 <sup>ab</sup>
Treated I	10	77.66 : 29.53	235.31 : 41.83	174.58 : 34.35 <sup>c</sup>
Treated II	10	70.36 : 17.53	240.41 : 31.82	178.13 : 31.64 <sup>d</sup>
Treated III	10	89.02 : 19.98	265.47 : 46.45	214.21 : 34.23

Control: Saline only + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, \*p<0.05 by One-Way ANOVA, <sup>a</sup>p<0.05 Compared to Treated I, II, III by Duncan's Multiple Range Test, <sup>b</sup>p<0.05 Compared to Treated II, I, III by Duncan's Multiple Range Test, <sup>c</sup>p<0.05 Compared to Treated I, II, III by Duncan's Multiple Range Test, <sup>d</sup>p<0.05 Compared to Treated III by Duncan's Multiple Range Test.

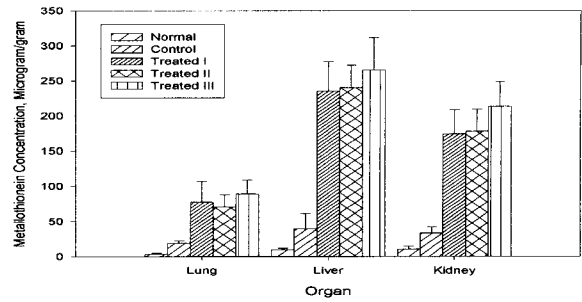


Fig. 9. Metallothionein concentrations in lung, liver, and kidney.

Table 9. Hemoglobin(Hb), Hematocrit(Hct), RBC, and WBC

Group	N	Hemoglobin, /dl	HCT, %	RBC, $\times 10^6/\text{mm}^3$	WBC, $10^3/\text{mm}^3$
Normal	10	14.21±1.53	45.28±4.49	8.11±0.95	9.62±1.22
Control	10	10.80±1.06 <sup>ab</sup>	37.41±7.19	7.81±0.93 <sup>bc</sup>	9.64±1.01
Treated I	10	12.06±1.00	42.43±0.63	7.93±1.21	9.61±1.32
Treated II	10	12.35±1.32	42.56±0.61	8.06±1.65	9.89±1.17
Treated III	10	11.91±1.02	42.20±1.01	8.13±0.97	9.50±0.95

Control: Saline only + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Methanol Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m<sup>3</sup>, \*p<0.05 by One-Way ANOVA, <sup>a</sup>p<0.05 Compared to Treated II, I, III by Duncan's Multiple Range Test, <sup>b</sup>p<0.05 Compared to Treated I, II, III by Duncan's Multiple Range Test.

8. 간장과 신장조직의 조직학적 관찰

간장과 신장의 조직 사진은 Fig. 10, 11과 같다. 흰쥐 정상군의 간장 조직은 육각형의 간소엽이 잘 보존되어 있었고 hepatic plates는 중심정맥을 중심으로 하여 방사상으로 규칙적으로 나열되었다. 간세포의 핵은 hematoxylin에 진한 청색으로 염색되었고 세포질은 eosin에 진한 분홍색으로 염색되어 있었으며 간소엽 주변부는 eosin에 약간 진하게 염색되었다. 대조군과 처리군 I, II, III에서 공통적인 것은 간소엽이 손상을 많이 받았다. 특히, 대조군의 경우 간소엽이 손상을 많이 받았고 간세포판의 배열이 불규칙하였다. 그리고 간소엽 주변부의 공포양 구조가 많이 관찰되었고 괴사상태에 있는 간소엽이 많이 관찰되었다. 처리군에서는 간소엽의 손상 정도, 간세포판의 불규칙한 배열의 관찰은 검액 투여량의 증가에 따라 다소 감소되었고 간소엽의 손상, 공포양 구조 및 괴사상태의 간소엽은 많이 감소되었다.

정상군의 신장 조직은 사구체, 원위곱슬세관, 근위곱슬세관 및 Henle's loop 등이 잘 구분되었고 각 부위를 형성하고 있는 세포의 세포질이 eosin에 진한 분홍색으로 염색되어 있었으며 핵은 hematoxylin에 푸른색으로 선명하게 염색되어 있었다. 대조군과 처리군 I, II, III에서 원위곱슬세관과 근위곱슬세관이 공통적으로 손상을 많이 받았다. 대조군의 경우 근위곱슬세관과 원위곱슬세관의 비후가 심하였고 사구체는 비후하였으며 사구체 모세혈관의 손상이 심하였다. 처리군에서는 근위곱슬세관과 원위곱슬세관의 비후와 변성이 있었으나 검액 투여량의 증가에 따라 많이 개선되었다. 처리군 I과 II에서는 사구체의 비후가 대조군에 비해 개선되지 않았으나 사구체 모세혈관의 손상은 개선되었다. 처리군 I 및 II에 비해 처리군 III에서는 근위곱슬세관과 원위곱슬세관의 비후 그리고 사구체 및 사구체 모세혈관의 상태가 많이 개선되었다.

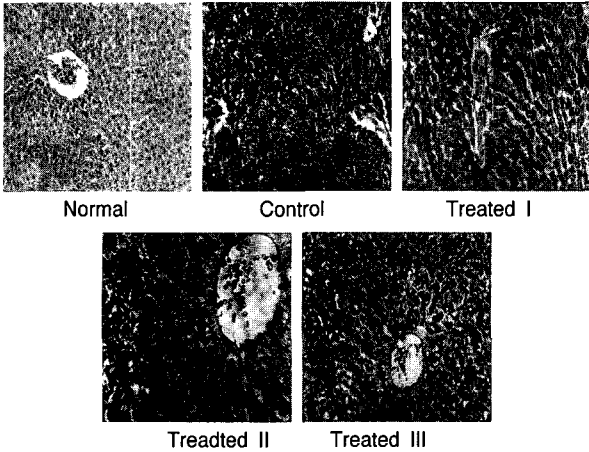


Fig. 10. Histological liver section by the group.

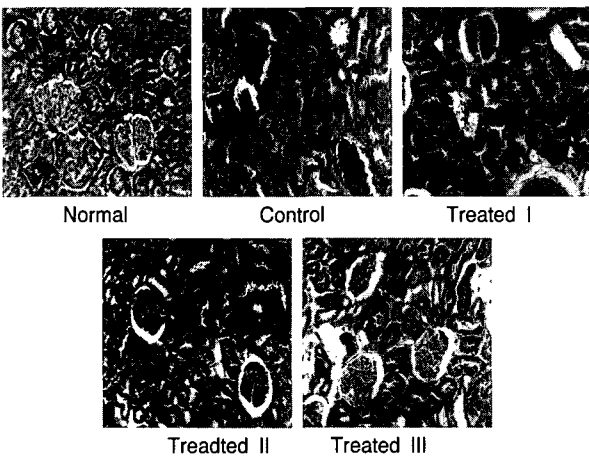


Fig. 11. Histological kidney section by the group.

## 고찰

牛膝은 活血祛瘀, 通利關節, 引血引火下行, 補肝腎, 強腰膝 등의 효능이 있어 月經不調, 通經, 經閉, 產後腹痛, 濕熱關節痺痛, 吐血衄血, 口舌生瘡, 頭痛, 眩暈, 腰膝酸痛無力 등의 병증을 치료한다.<sup>13,14)</sup> 牛膝의 주성분은 saponin, ecdysterone, inokosterone, oleanolic acid, glucuronic acid, 다량의 칼륨염, polysaccharide 등이다. 현재까지 牛膝 추출물에 대한 연구문헌은 항염증, 항산화, 간 보호, 항암작용 등 다양하게 보고되고 있으며<sup>23)</sup> 카드뮴의 흡입독성과 관련된 논문은 보고되지 않고 있다.

카드뮴에 대한 미국산업위생협회의 허용기준치는 0.05mg/m<sup>3</sup>이다<sup>24)</sup>. 이것을 Niesink 등<sup>25)</sup>의 방법에 의해 안전계수 15를 적용한 몸무게, 暴露시간, 호흡량에 대한 브릿징을 하면 흰쥐에 대한 허용기준치는 0.38mg/m<sup>3</sup>으로 본 연구에서 처리군은 2.6배 높은 허용기준치에 暴露되었다. 안전계수 10을 적용한 暴露시간에 대한 브릿징을 하면 흰쥐에 대해서는 허용기준치가 0.67mg/m<sup>3</sup>으로 본 연구에서 처리군은 1.5배 높은 허용기준치에 暴露된 것으로 추정·계산될 수 있다. 이러한 브릿징을 하지 않을 경우, 본 연구에서 카드뮴 에어로졸에 吸入暴露된 흰쥐는 허용기준치의 약 20배 높은 농도에 吸入暴露된 것이다.

Massaro<sup>26)</sup>의 방법으로 폐에 대한 흡입투여량과 침착된 양은 강 등<sup>10)</sup>의 연구에서는 각각 1.13mg과 0.02mg이었으며 박 등<sup>11)</sup>의 연구에서는 각각 1.17mg과 0.10mg이었으며 김흥기 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 각각 1.19mg과 0.10mg이었다. 본 연구에서는 흡입투여량이 1.13mg, 폐에 침착된 양은 0.09mg이었다. 이러한 차이의 원인은 카드뮴 흡입폭로를 위해 발생된 카드뮴 에어로졸의 MMD의 크기에 차이가 있었기 때문이다. 조직과 혈액내의 카드뮴 농도를 정 등<sup>17)</sup>의 연구결과와 비교해 보면 처리군에서는 본 연구결과가 폐에서 0.76배, 간장에서 0.62배, 신장에서 0.63배 낮았고, 혈액에서는 4.05배 높았다. 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과와 비교해 보면 본 연구결과가 처리군의 폐에서 0.76배, 간장에서 0.61배, 혈액에서 0.82배 낮았고 신장에서는 1.01배 높았다.

본 연구에서 검액의 투여는 桑葉 ethyl acetate 추출물에 비해 폐, 간장 및 신장에 침착된 카드뮴의 제거에 많은 영향을 주는 것으로 생각되나 혈액에서의 카드뮴 제거에는 그러하지 않았다. 이러한 원인으로는 폐에서 혈액으로 이동된 카드뮴이 간장 및 신장으로 이동되는 비율이 정 등<sup>17)</sup>의 연구에서 보다 느리기 때문인 것으로 생각된다. 牛膝 물 추출물에 비해서는 폐, 혈액, 간장에 침착된 카드뮴의 제거에 본 연구의 검액 투여가 많은 영향을 준 것으로 생각되고, 신장에 침착된 카드뮴의 제거는 김 등<sup>15)</sup>의 연구와 유사한 수치이었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 본 연구의 검액 투여는 폐에서 침착된 카드뮴이 혈액으로 이행되고 간에서 신장으로 그리고 신장에서 소변을 통한 배설에 많은 영향을 주는 것으로 생각된다.

카드뮴에 대한 吸入暴露와 독성에 대한 연구는 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>에 의해서 일부 수행되었지만 비교할 수 있는 자료는 많지 않다. 그의 연구에서는 흰쥐를 1일 6시간, 12주 동안 공기중 카드뮴 흡 농도 0.1mg/m<sup>3</sup>과 1.0mg/m<sup>3</sup>에 吸入暴露되게 하였다. 1.0mg/m<sup>3</sup>에 吸入暴露된 흰쥐 10마리중 3마리는 연구시작 시점에서 46-49일째 되는 날 죽었고 0.1mg/m<sup>3</sup>에 吸入暴露된 흰쥐에서는 사망이 없었고 대조군과 유사한 체중의 증가를 보였다. 그러나, 2주 동안의 吸入暴露 후 0.1mg/m<sup>3</sup> 그리고 1.0mg/m<sup>3</sup>에 吸入暴露된 흰쥐의 폐 무게에서 증가가 있었다. 폐의 병리학적 소견의 관점에서, 3개월 흡입暴露 후 1.0mg/m<sup>3</sup> 흰쥐에서 폐섬유화 및 1단계 기종이 관찰되었고 0.1mg/m<sup>3</sup>에 吸入暴露된 흰쥐에서는 더 완만하게 나타났으며 양자의 흰쥐에서 대조군과 비교해 체중의 증가 및 RBC, Hb, hematocrit의 변화는 없었다. 본 연구에서는 吸入暴露 동안에 죽은 흰쥐는 없었고 폐의 섬유화 및 기종도 관찰되지 않았다. 카드뮴 공급시 식이섭취량을 감소시키고 체중증가에 감소를 가져온다는 여러 보고가 있었고<sup>28,29)</sup> 본 연구도 식이섭취량과 체중증가량은 정상군에 비해 처리군 및 대조군에서 유의하게 감소하였고 대조군과 비교할 때도 처리군 모두에서 유의한 차이가 있었다. 이러한 결과는 정 등<sup>17)</sup>, 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과와 유사하였으나 체중증가량에 차이가 없었던 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구와는 다른 결과를 얻었다. 본 연구에서 정상군에 비해 처리군 및 대조군에서 체중증가량이 감소된 것은 감소된 식이섭취량에 기인한 것으로 생각되고 대조군에 비해 처리군에서 식이섭취량 및 체중증가량이 유의하게 증가한 것은 검액의 투여가 영향을 준

것으로 생각된다. 본 연구에서 혈액학적 변수 중에 Hb와 RBC만이 정상군에 비해 유의한 차이가 있었고 Hct, WBC는 정상군과 처리군 및 대조군과의 비교시 유의한 차이가 없었으며 Hb과 RBC는 대조군과 처리군과의 비교시에도 유의한 차이가 있었다. 이러한 결과는 카드뮴 에어로졸의 흡입暴露시 Hb에만 영향을 주었던 정 등<sup>17)</sup>과 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과와 유사하였고 본 연구에서는 이들의 연구에서와는 다르게 RBC에서도 수치적인 차이가 있었다. 이러한 연구결과와의 차이는 공기중 카드뮴 에어로졸의 暴露 농도, 입자의 MMD 등에 의한 차이보다는 본 연구의 검역 투여가 桑葉 ethyl acetate 추출물 및 牛膝 물 추출물의 투여와 다른 경로로 카드뮴 에어로졸 흡입暴露에 의해 영향을 받는 혈액학적 변수에 영향을 주는 것으로 생각된다. 본 연구는 Yoshikawa 등<sup>29)</sup>의 연구에서와 같이 Hct에는 정상군과 차이가 없었으나 Hb와 RBC 수치에서는 정상군과 차이가 있었다. Hb의 수치에서 본 연구결과와 정 등<sup>17)</sup>, 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과와 유사하였으나 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구와 본 연구는 결과에 있어 많은 차이가 있었는데 이러한 차이의 원인은 2가지로 요약할 수 있다. 첫 번째는 폐의 병리학적 소견에 대한 것인데 흡은 연소, 승화, 응결과 같은 기전에서 생성되는 미세한 입자상 물질이며 입자의 크기 범위는 0.001-1.0 $\mu$ m로 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구에서는 입자의 크기를 규정하지 않았지만 본 연구의 입자의 크기 1.78 $\mu$ m는 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구와 비교해 볼 때 약 1780-1.8배 컸다. 입자의 크기가 크다는 것은 폐에 침착될 수 있는 양이 더 감소한다는 것을 의미하며 폐를 통한 체내로의 흡수가 낮다는 것을 의미한다. Snyder<sup>29)</sup>에 의하면 흰쥐에서 1 $\mu$ m와 5 $\mu$ m의 입자크기를 비교할 때 폐에 침착되는 비율은 1 $\mu$ m의 입자크기가 5배 높다고 하였다. Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구에서 폐의 섬유화와 기종이 관찰된 것은 입자의 크기가 작은 흡을 이용하였고 이로인해 흡입暴露시 폐에 침착된 카드뮴 입자의 양이 많아진데 기인하였다고 할 수 있다. 따라서 카드뮴 에어로졸에 흡입暴露가 되는 경우 입자의 크기에 따라서 나타날 수 있는 폐에 침착되는 카드뮴의 양의 차이로 인해 생리, 병리학적 반응은 다를 수 있다는 것을 추정할 수 있고 카드뮴 에어로졸의 흡입暴露 실험에서 입자의 크기 즉 MMD를 규정한다는 것은 매우 중요함을 알 수 있다. 두 번째는 혈액학적 차이인데 이는 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구에서는 용해성이 낮은 금속 카드뮴 흡에 흰쥐를 흡입暴露시켰고 본 연구에서는 용해성이 높은 염화 카드뮴을 흡입暴露시킨데 그 원인이 있는 것으로 생각되며 카드뮴 에어로졸의 입자크기가 동일하다고 가정할 때 용해성이 높은 염화 카드뮴이 폐에 침착되고 난후 체내에 더 많은 양이 흡수될 수 있다는 것을 추정할 수 있다. Rusch 등<sup>18)</sup>과 Tsuchiya<sup>30)</sup>은 입자의 크기이외에도 물질의 용해성이 독성을 결정하는 중요한 요인이라고 하였고 Tsuchiya<sup>30)</sup>는 용해성이 낮은 CdS는 CdCl<sub>2</sub>, CdSO<sub>4</sub>보다 간장과 신장에 축적되는 양이 낮다고 하였다.

실험동물의 조직에서 카드뮴 축적량의 50-80%가 간장과 신장에 분포되기 때문에 카드뮴 중독에 가장 많은 영향을 받는 장기는 간장과 신장으로 이들의 무게가 카드뮴 공급에 의해 감소한다는 보고가 있다. 본 연구에서는 신장의 무게는 정상군에 비

해 처리군에서 유의하게 감소하였으나 간장의 무게는 차이가 없었다. 이러한 연구결과는 류와 김<sup>28)</sup>의 연구결과와 같이 신장의 무게에서는 유사한 결과를 얻었으나 간장의 무게에서는 다른 결과를 얻었다. 그러나 폐의 무게는 정상군에 비해 감소하였으나 유의성은 없었다. 본 연구에서 처리군과 대조군의 비교시 검역의 투여는 폐의 무게 증가에는 유의한 영향을 주지 못했으나 간장과 신장의 무게 증가에는 유의한 영향을 준 것으로 생각된다.

각종 장기와 혈액의 카드뮴의 함량을 보면 4주간의 카드뮴 에어로졸에 대한 흡입暴露로 인하여 정상군에 비해 모두 유의하게 카드뮴 함량이 증가하였고 폐(27.93 $\mu$ g/g), 신장(16.57 $\mu$ g/g), 간장(13.93 $\mu$ g/g), 및 혈액(11.13 $\mu$ g/dl)의 순으로 카드뮴 함량이 높았다. 이러한 결과는 정 등<sup>17)</sup>의 연구결과와 유사하였고 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과와는 간장과 신장에서의 순위에 있어 차이가 있었다. 산화 카드뮴 흡에 30분 暴露후 7일 후의 조직중 카드뮴 농도를 분석한 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구에서도 카드뮴의 유입경로인 폐의 농도(2.82 $\mu$ g/g)가 높음을 강조하였고 다음이 신장(0.69 $\mu$ g/g), 간장(0.39 $\mu$ g/g)의 순이었는데 이는 본 연구결과와 그 경향에 있어 유사하였다. 이러한 결과는 暴露기간이 단기간이라는데서 기인한 것으로 생각된다. 카드뮴에 흡입暴露시 폐내의 카드뮴 함량이 높은 것은 체내로의 유입경로라는 것 이외에도 흡입시 침착된 카드뮴 입자가 혈류를 통해 분포되는데 소요되는 시간 등에도 부분적인 원인이 있을 것으로 생각된다. 혈액내의 카드뮴 함량이 상대적으로 낮은 것과 폐에서 혈류로의 이동이 느리고 일단 혈류로 들어온 카드뮴이 간장과 신장으로 분포되고 최종적으로는 대부분은 소변을 통해서 그리고 일부는 대변을 통해서 느리게 배설되기 때문인 것으로 생각된다. 간장은 카드뮴의 暴露경로에 관계없이 체내에서 카드뮴 축적이 가장 높은 기관으로 카드뮴에 의해 가장 독성을 나타내기 쉽다고 하였다. 그러나 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구와 같이 본 연구와 정 등<sup>17)</sup>의 연구에서는 간장보다 신장에서의 카드뮴 농도가 더 높았으나 김 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 간장에서의 카드뮴 농도가 더 높았다. 조직내의 metallothionein 농도를 정 등<sup>17)</sup>의 연구결과와 비교해 보면 대조군에서는 폐에서 약 0.9배, 간장에서 약 0.4배, 신장에서 약 0.4배 정도 본 연구결과가 낮았고 처리군에서는 폐에서 2.66배, 간장에서 1.26배, 그리고 신장에서 1.02배 본 연구결과에서 높았다. 김 등<sup>15)</sup>의 연구와 비교해 보면 대조군에서는 폐에서 약 0.9배, 간장에서 약 0.9배, 신장에서 약 0.7배 본 연구결과가 낮았고 처리군에서는 폐에서 1.68배, 간장에서 1.37배, 신장에서 1.35배 본 연구결과가 높았다. 본 연구결과는 정 등<sup>17)</sup>, 김 등<sup>15)</sup>의 연구에서와 같이 대조군에 비해 검역을 투여한 처리군의 폐, 간장, 및 신장의 metallothionein 함량은 모두 증가하였고 검역의 투여 농도 증가에 따라 metallothionein의 농도 또한 증가하는 용량-반응의 결과를 얻었으며 이러한 용량-반응관계는 정 등<sup>17)</sup>, 김 등<sup>15)</sup>의 연구에서 보다 강하게 제시되었다.

정 등<sup>17)</sup>, 김 등<sup>15)</sup>의 연구에서와 같이 본 연구에서도 검역의 투여가 카드뮴 에어로졸에 흡입暴露된 흰쥐의 폐, 간장과 신장에서 metallothionein의 생성 및 카드뮴의 제거기전에 많은 영향을 준 것으로 생각된다. 본 연구에서 카드뮴 흡입暴露와 상염 ethyl



acetate, 우슬 물 추출물의 영향을 연구한 정 등<sup>17)</sup>, 김 등<sup>15)</sup>의 연구에서와 같이 신장의 카드뮴 농도가 간장에 비해 높지 않았는데 이러한 현상은 카드뮴의 흡입暴露로 인해 체내로 흡수된 카드뮴의 양이 신장에서 수용할 수 있는 양을 초과했기 때문에 간장은 카드뮴을 저장하는 역할을 한 것으로 생각되며 이러한 결과는 魚腥草 분획을 이용한 이 등<sup>12)</sup>의 연구에서도 제시되었다.

본 연구에서 폐의 카드뮴 함량은 대조군에서  $91.08\mu\text{g/g}$ , 실험군에서  $27.93\mu\text{g/g}$ 이었다. 단일 3가지 카드뮴 색소에 대해 2시간 동안 흡입暴露시킨 Rusch 등<sup>18)</sup>에 의한 연구에서 카드뮴 옐로우, 카드뮴 레드, 탄산 카드뮴 각각에 대해 폐의 카드뮴 함량은  $115\mu\text{g/g}$ ,  $156\mu\text{g/g}$ ,  $144\mu\text{g/g}$ 이었고  $22\text{mg/m}^3$  산화 카드뮴 흡(0.2  $\mu\text{m}$ )에 20분 동안 흡입暴露시킨 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구에서는 폐에서 카드뮴 함량은  $10.03\mu\text{g/g}$ 이었다. 본 연구와 Rusch 등<sup>18)</sup>의 연구는 분진의 형태이고 Yoshikawa 등<sup>27)</sup>의 연구는 입자의 크기가 작은 흡의 형태이었는데 입자의 크기가 작을 수록 폐에 침착되는 카드뮴의 양이 많음을 알 수 있고 본 연구에서와 같이 열화 카드뮴과 같은 수용성 카드뮴일수록 폐에서 제거되는 정도가 높음을 알 수 있었다.

본 연구에서는 카드뮴 에어로졸 흡입暴露로 인한 독성저하의 직접적인 지표인 metallothionein의 농도는 간장 및 신장에서 대조군과 처리군 I, II, III과의 비교시 유의하게 증가하였는데 이는 검액의 투여에 의한 영향으로 생각된다. 폐의 metallothionein 함량은 간장과 신장에 비해 상대적으로 낮은 함량이었으나 대조군 및 처리군 I, II, III과 비교시 유의한 차이가 있었다. 이는 검액의 투여가 폐내에 침착된 카드뮴에 대해 metallothionein의 생성 및 침착되어 있는 카드뮴의 제거기전에 영향을 준 것으로 생각된다. 실험동물의 폐에서 metallothionein의 유도에 대한 연구가 적어서 정확한 비교는 할 수 없으나 Itoh 등<sup>31)</sup>은 colchicine 투여에 의해 폐의 정상군에 비해 3배 높은 농도의 metallothionein을 보고하였으나 본 연구에서는 검액 투여군의 폐에서 유도된 metallothionein의 농도가 정상군에 비해 20.4배, 대조군에 비해 4.2배 높았는데 이는 검액의 투여가 폐에서 metallothionein의 유도에 영향을 주는 것으로 생각된다. 정 등<sup>17)</sup>의 연구에서는 폐에서 유도된 metallothionein의 농도가 정상군에 비해 5.9배, 대조군에 비해 1.4배 높았고 김 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 정상군에 비해 8.7배, 대조군에 비해 2.2배 높았다. Itoh 등<sup>31)</sup>의 연구에서 실험군 간장의 metallothionein 농도는 정상군에 비해 약 11.3배 높았는데 본 연구에서는 정상군에 비해 25.4배, 대조군에 비해 6.3배 높았는데 이는 검액의 투여가 간장에서 metallothionein의 유도에 영향을 준 것으로 생각된다. 정 등<sup>17)</sup>의 연구에서는 간장에서 유도된 metallothionein의 농도가 정상군에 비해 14.2배, 대조군에 비해 1.8배 높았고 김 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 정상군에 비해 16.6배, 대조군에 비해 4배 높았다. Itoh 등<sup>31)</sup>의 연구에서 실험군 신장의 metallothionein 농도는 정상군에 비해 약 3배 높았는데 본 연구에서는 정상군에 비해 17.9배, 대조군에 비해 5.6배 높았는데 이는 검액의 투여가 신장에서 metallothionein의 유도에 영향을 준 것으로 생각된다. 정 등<sup>17)</sup>의 연구에서는 신장에서 유도된 metallothionein의 농도가 정상군에 비해 15.4배, 대

조군에 비해 1.9배 높았고 김 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 정상군에 비해 12.7배, 대조군에 비해 2.9배 높았다. 이러한 연구결과를 고려해 볼 때 牛膝 methanol 추출물의 metallothionein 생성 효과는 桑葉 ethyl acetate 추출물, 牛膝 물 추출물의 영향 보다 높다는 것을 추측할 수 있다. 정 등<sup>17)</sup>, 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과에서는 약한 용량-반응관계를 나타내었으나 본 연구에서는 폐, 간장과 신장에서의 metallothionein 함량에 있어 검액의 투여량 증가에 따라 용량-반응관계가 더 뚜렷한 것이 특징적이다. 이러한 것을 고려해 볼 때 검액의 투여는 카드뮴에 대한 metallothionein 증대에 의한 cytosol에서 카드뮴의 격리와 제거하는 능력에 영향을 주는 것으로 생각되고<sup>32)</sup> 그것에 의해서 카드뮴에 대한 중독으로부터 독성을 저하시키고 카드뮴 에어로졸이 침착되어 체내로 흡수되는 폐, 및 표적장기인 간장과 신장에서 카드뮴의 제거에도 기여하는 것으로 생각된다. 카드뮴 유발 독성에 대한 방어기전에서 metallothionein의 이러한 기능 때문에 조직에서 높은 metallothionein 농도는 동물에게 명백하게 생리학적 이점이 있을 수 있다<sup>33)</sup>. 카드뮴과 수은 같은 중금속의 해독에 또한 중요하고<sup>34)</sup> 카드뮴 에어로졸에 대한 흡입폭로는 폐의 metallothionein 수준을 높여 급성 카드뮴 폭로에 대한 폐의 저항성을 높이고 다른 치명적 산화성 폭로에 대한 교차내성을 가지게 한다<sup>35)</sup>.

Sendelbach와 Klaassen<sup>36)</sup>은 카드뮴의 형태에 따라 metallothionein의 생성량에 차이가 있음을 보고하였고 이러한 차이는 간장에 존재하고 있는  $\text{CdCl}_2$ 에 의해 생성되는 metallothionein의 양에 비하여 신장에 존재하는 metallothionein의 양이 현저히 작고 신장의 용해소체에서 해리된 카드뮴 이온이 매우 작은 양의 metallothionein을 생성하기 때문에 만성 카드뮴 중독의 경우는 신장이 표적장기이고 급성 카드뮴 중독의 경우는 간장이 표적장기라고 하였다. 본 연구에서도 대조군, 처리군 I, II, 및 III에서 모두 신장의 metallothionein 농도보다 간장의 metallothionein의 농도가 높았고 이러한 결과는 정 등<sup>17)</sup>, 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과와 유사하였다.

간장조직에 대한 조직학적 관찰에서 대조군과 처리군 모두에서 간소엽의 손상이 많이 관찰되었고 대조군에서는 과사상태의 간소엽이 많이 관찰되었으나 처리군에서는 검액의 투여량 증가에 따라서 이러한 현상이 다소 감소되었다. 카드뮴 흡입暴露로 인한 간장 손상에 있어 김 등<sup>15)</sup>의 牛膝 물 추출물 보다는 본 연구의 검액투여가 더 효과가 있는 것으로 나타났다. 신장조직에 대한 조직학적 관찰에서 대조군과 처리군 모두에서 원위곱슬세관과 근위곱슬세관이 영향을 많이 받았고 사구체의 비후를 관찰할 수 있었다. 대조군에서와는 다르게 검액을 투여한 처리군에서 검액의 투여량 증가에 따라 이러한 현상의 감소가 있었는데 이는 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과와 유사하였다. Wlostowski 등<sup>37)</sup>의 연구에서 간장과 신장의 낮은 카드뮴 농도와 높은 metallothionein의 농도에도 불구하고 간장과 신장 조직의 손상을 보고하였는데 본 연구에서도 간장과 신장에서 metallothionein 농도가 증가하였음에도 이러한 결과가 어느 정도 있었으며 간장조직에서 이러한 현상을 더 많이 볼 수 있었다. 이러한 결과는 김 등<sup>15)</sup>의 연구결과와 유사하였다. Wlostowski 등<sup>37)</sup>은 이러한 원인을 높은 농도의

카드뮴에 暴露될 경우 metallothionein은 간장과 신장의 카드뮴-유발 손상에 대해 보호 효과가 있다고 하였고 이러한 경우 카드뮴은 조직의 Fe 및 Fe-의존성 산화과정의 억제제를 통해, 간접적으로 조직을 손상시킨다고 하는데<sup>38,39)</sup> 본 연구의 결과도 이러한 원인에 기인한 것으로 생각되고 이러한 기전에 대해서는 검역의 투여가 영향을 주지 못하는 것으로 생각된다.

본 연구에서 카드뮴 에어로졸에 吸入暴露된 흰쥐에 검역을 투여한 결과 조직내 카드뮴 농도는 폐, 신장, 간장에서 낮아졌고 metallothionein의 관점에서 간장, 신장, 및 폐에서 카드뮴으로 인한 독성의 완화에 영향을 준 것으로 생각된다. 그리고 체중증가량과 식이 섭취량에도 영향을 주었고 혈액에서는 Hb, RBC에도 영향을 주었으며 조직관찰에서는 간장과 신장의 조직 손상의 완화에 영향을 준 것으로 생각된다.

세계보건기구에서는 직업적 카드뮴 중독에 대해 특별한 의학적 치료방안이 없기 때문에 의학적, 공학적으로 예방의 중요성을 강조하고 있다<sup>9)</sup>. 현재까지 카드뮴 중독은 효과적으로 치료하기가 어렵고. 명확하게 도움이 된다고 증명되지는 않았지만, CaNa2EDTA의 킬레이트 요법이 추천되어왔으며 Dimercaprol은 신장 독성을 증가시키기 때문에 사용할 수 없다고 한다. 실험동물에서 CaNa2EDTA와 CaNa2DTPA와 같은 polycarboxylic acid chelator가 카드뮴에 暴露된 후 즉시 투여되었을 때 효과적일 수 있다는 보고가 있으나<sup>7)</sup> 불행하게도 킬레이트제가 도달하지 못한 부분은 빨리 분포되기 때문에 킬레이트 요법은 시간이 경과함에 따라 효과가 급속히 떨어진다고 한다<sup>40)</sup>. 따라서 킬레이트제의 투여는 급속히 暴露된 후 가능한 빨리 실행되어야 한다<sup>9)</sup>.

## 결 론

카드뮴 흡입으로 유발된 독성에 대한 牛膝 methanol 추출물의 영향을 연구하고자 흰쥐 흡입 폭로군은 1일 6시간, 1주일에 5회, 및 4주간 공기중 카드뮴 에어로졸에 吸入暴露되었고 흡입폭로 챔버내에서 카드뮴 에어로졸 농도는 0.98mg/m<sup>3</sup>, MMD는 1.78 μm으로써 연구결과는 다음과 같이 요약된다.

체중증가량, 식이섭취량은 처리군 III, 간장과 신장의 무게는 처리군 II에서 유의하게 높았고(p<0.05), 폐의 무게는 처리군 III에서 약간 높았으나 유의성은 없었다. 폐에서 카드뮴 함량은 처리군 III에서 유의하게 낮았다(p<0.05). 혈액, 간장과 신장에서 카드뮴 농도는 처리군 I에서 유의하게 높았다(p<0.05). 주별 소변중 카드뮴 농도는 3주째 처리군 III, 4주째 처리군 I과 II에서 공히 높았고, 주별 대변중 카드뮴 농도는 1주째 처리군 I, II, III에서 유의하게 높았다(p<0.05). 폐, 간장, 신장의 metallothionein 농도는 처리군 III에서 유의하게 높았다(p<0.05). Hb는 처리군 II에서 RBC는 처리군 III에서 유의하게 높았고(p<0.05), Hct와WBC는 처리군 II에서 약간 높았으나 유의성은 없었다. 간장조직에 대한 관찰에서는 간소엽이 영향을 많이 받았고 검역 투여량의 증가에 따라 간장 조직의 손상은 다소 감소되었다. 신장조직에 대한 관찰에서 대조군과 처리군 I, II, III의 조직은 원위곱슬세관, 근위곱슬세관, 사구체가 영향을 많이 받았으며 검역의 투여량 증가에 따

라 신장조직의 손상이 많이 감소하였다.

이상으로 牛膝 methanol 추출물의 복강내 투여는 카드뮴 에어로졸에 吸入暴露된 흰쥐의 간장, 신장, 및 폐에 대한 독성 영향을 감소시키는 것으로 나타났으며 이에 대한 정확한 기전에 대해서는 추가의 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2003년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 수행됨.

## 참고문헌

- Goyer, R. A.: Toxic effects of metals. In Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons (C. D. Klaassen, Ed.), pp. 691-736. McGraw-Hill, New York, 1996.
- Williams P.L. and Burson J.L.: Industrial Toxicology: Safety and Health Applications in the Workplace. Van Nostrand Reinhold. New York. pp. 242-245. 1998.
- Hardman, J.G., Mimbird, L.E.: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th Ed. McGraw-Hill, New York, pp.1865-1867, 2001.
- Friberg, L., Kjellstrom, T., Nordberg, G.: Cadmium. Handbook on the Toxicology of Metals. L. Friberg, G.F. Nordberg, and V. Vouk, Eds. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, New York, pp.130-184, 1986.
- Hadley, J.G., C.L. Sanders and A.W. Conklin: Rapid Solubilization and Translocation of Cadmium-109 Oxide Following Pulmonary Deposition. Toxicol. Appl. Pharmacol., 54:156-160, 1980.
- Roe1s, H.A., Lauwerys, R.R., Bucket, J.P., Bernard, A., Chettle, D.C., Harvey, T.C., and Al-Haddad, I.K.: In vivo Measurement of Liver and Kidney Cadmium in Worker Exposed to This Metal: Its Significance with Respect to Cadmium in Blood and Urine. Environ. Res., 26:217-240, 1981.
- Cantilena, L.R., and Klaassen, C.D.: Decreased effectiveness of chelation therapy for Cd poisoning with time. Toxicol. Appl. Pharmacol., 63:173-180, 1982.
- Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W. and Murad, F.: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 7th Ed. Macmillan Publishing Company, New York, pp.1664-1665, 1985.
- WHO: Cadmium, Environmental Health Criteria 134, Int. Prog. Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, 1992.
- 강성호, 천병렬, 김상덕, 송용선, 이기남, 정재열: 牛膝 추출물이 카드뮴에 흡입폭로된 랫드의 독성에 미치는 영향. 동의생리병리학회지, 16(1): 78-88. 2002.
- 박재수, 정재열, 이택준, 강성호, 송용선, 이기남: 牛膝 추출물이 카드뮴에 흰쥐의 카드뮴 에어로졸 흡입독성에 미치는 영

- 향. 동의생리병리학회지, 16(6):1243-1252. 2002.
12. 이기남, 정재열, 송용선, 이정호, 유일수, 김신기, 백승화: 魚腥草 분획이 흰쥐 장기내 카드뮴 축적과 Metallothionein 생성에 미치는 영향(VI), 22(1):22-32. 2001.
  13. 신민교: 임상 본초학. 영림사. pp.525-527, 1997.
  14. Bensky, D. and Gamble, A.: Chinese Herbal Medicine Materia Medica. Eastland Press, pp.408-410. 1993.
  15. 김흥기, 정재열, 박승정, 강성호, 송용선, 이기남: 牛膝 추출물이 카드뮴 흡입폭로된 흰쥐의 독성해독에 미치는 영향. 동의생리병리학회지, 18(2):1035-1041, 2004.
  16. 정재열, 도날드 밀턴, 김태형, 이종영, 장두섭, 강성호, 송용선, 이기남: 카드뮴 흡입독성연구를 위해 설계된 에어로졸 발생장치에서 발생한 카드뮴 에어로졸의 입경분석. 동의생리병리학회지, 16(5):1035-1041. 2002.
  17. 정재열, 송용선, 이기남: 桑葉 Ethyl Acetate 추출물이 카드뮴의 흡입독성에 미치는 영향. 동의생리병리학회지, 17(3):700-710. 2003.
  18. Rusch, G.M., O'Grodnick, J.S., and Rinehart, W.E.: Acute Inhalation Study in the Rat of Comparative Uptake, Distribution and Excretion for Different Cadmium Containing Materials Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 47(12):754-763, 1986.
  19. Hinds, W.C.: Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles. John Wiley and Sons, New York, pp.392-394, 1982.
  20. Eller, P.M.: Method 8005 NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), Fourth Edition, pp.1-6. 1987.
  21. Eaton DL, and Cherian MG.: Determination of metallothionein in tissue by cadmium-hemoglobin assay. Methods Emzymol, 205:83-8, 1991.
  22. Tetsuo, Y., Kosanke, S.D., and Rikans, L.E.: Attenuation of Cadmium- Induced Liver Injury in Senescent Male Fischer 344 Rats: Role of Metallothionein and Glutathione. Toxicology and Applied Pharmacology, 161:225-230, 1999.
  23. Shimomura, H., Sashida, Y. and Nakata, H.: Plant growth regulating activities of crude drugs and medicinal plants. Shoyakugaku Zasshi, 35:173-179, 1981.
  24. American Conference of Governmental Industrial Hygienists: Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 6th ed. ACGIH, Cincinnati, OH, pp.BE147-55. 1991.
  25. Niesink, R.J.M., Vries, J.D., Hollinger, M.A.: Toxicology Principles and Applications. CRC Press. New York, pp.575-604, 1996.
  26. Massaro, E.J.: Handbook of Human Toxicology. CRC Press, New York, pp.528-540, 1997.
  27. Yoshikawa, H., Kawai, K., Suzuki, Y., Nozaki, K., and Ohsawa, M.: Studies on cadmium effects in living organisms-impairment due to inhalation. Toxicol. Appl. Pharmacol., 34:517, 1975.
  28. 류정미, 김미경: 식이내 Cysteine 수준이 흰쥐의 카드뮴과 납 중독에 미치는 영향. 한국영양학회지 1996, 29(6):597-607.
  29. Snyder, W.S.: International Commission on Radiological Protection, No. 23: Report of the Task Group on Reference Man, Pergamon Press, Oxford, 1975.
  30. Tsuchiya, K.: Cadmium Studies in Japan: A Review. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. New York, pp.45-128, 1978.
  31. Itoh, N., Kasmatsu, M., Onosaka, S, Muto, N., Tanaka, K.: Colchicine- induced elevation of tissue metallothionein contents is mediated by inflammation-independent serum factor. Toxicology, 116:201-209, 1997.
  32. Choudhuri, S., Liu, W.L., Berman, N.E.J. and Klaassen, C.D.: Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stage of development. Toxicol. Lett., 84:127-33, 1996.
  33. Liu, J., Kershaw, W.C., Klaassen, C.D.: The protective effect of metallothionein on the toxicity of various metals in rat primary hepatocyte culture. Toxicol. Appl. Pharmacol., 107:27-34, 1991.
  34. Wolf, C., Rosick, U., Bratter, P.: Quantification of the metal distribution in metallothioneins of the human liver by HPLC coupled with ICP-AES. Fresenius J Anal Chem, 368:839-843, 2000.
  35. Hart, B. A., Voss, G. W., and Willean, C. L.: Pulmonary tolerance to cadmium following cadmium aerosol pretreatment. Toxicol. Appl. Pharmacol. 101, 447-460, 1989.
  36. Sendelbach, L.E. and Klaassen, C.D.: Kidney synthesizes less metallo- thionein than liver in response to cadmium chloride and cadmium metallothionein. Toxicol Appl Pharmacol., 92-95, 1988.
  37. Włostowski, T. Krasowska, A., Laszkiewicz-Tiszczenko, B.: Dietary cadmium induces histological changes despite a sufficient metallo- thionein lever in the liver and kidneys of the bank vole(Clethrionomys glareolus). Comparative Biochemistry and Physiology Part C 126., pp.21-28, 2000.
  38. Muller, T., Schuckelt, R., Jaenicke, L.: Cadmium/zinc-metallothionein induces DNA strand breaks in vitro. Arch. Toxicol., 65:20-26, 1991.
  39. Nomiyama, K., Nomiyama, H.: Cadmium-induced renal dysfunction: new mechanism, treatment and prevention. J. Trace Elem. Exp. Med, 11:275-288. 1998.
  40. Waalkes, M.P., Watkins, J.B., and Klaassen, C.D.: Minimal role of metallothionein in decreased chelator efficiency for cadmium. Toxicol. Appl. Pharmacol., 68:392-398, 1983.