

Rat에서 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin 유도 독성에 대한 귀뚜라미 추출물의 보호효과

충북대학교 수의과대학¹ · 대전대학교 생물학과 및 동서생명과학연구원²
서울보건대학 임상병리과³ · 충북대학교병원 진단검사의학과⁴

이남진¹ · 박종배² · 김동규¹ · 윤치영² · 배형준³ · 조정희¹ · 강종구¹ · 김윤배¹ · 황석연⁴

Preventive Effects of Cricket Extracts, *Gryllus bimaculatus*, against Toxicity Induced by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in Rats

Lee, Nam Jin¹., Park, Jong Bae²., Kim, Dong Kyu¹., Yun, Chi-Young²., Bae, Hyung Joon³.,
Cho, Jung-Hee¹., Kang, Jong-Koo¹., Kim, Yun Bae¹., Hwang, Seock Yeon⁴

College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea¹

Department of Biology and Institute of Traditional Medicine & Bioscience, Daejeon University, Daejeon, Korea²

Department of Clinical Laboratory Science, Seoul Health College, Seongnam, Korea³

Department of Laboratory Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea⁴

This study was carried out to investigate preventive effects of extracts of cricket, *Gryllus bimaculatus*, against the 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)-induced toxicity in 7-week-old Sprague-Dawley male rats. Thirty five male rats were divided into 5 groups: one normal control group treated with vehicle and saline (G1); one TCDD-treated group by single intraperitoneal injection (G2); three preventive groups (G3, G4, and G5). The last three groups, G3, G4, and G5, were fed on cricket extracts (50, 100, and 200 mg/kg, respectively) for 2 weeks before TCDD treatment. Various harmful effects were shown by TCDD treatment. The body weights of rats were lost by TCDD. In addition, severe hypertrophy and color change, and the weights gaining were found in the livers of TCDD-treated rats. It was observed that the cytoplasmic vacuolizations and inflammatory cell infiltration around portal triad in the liver. TCDD also elevated the serum activity levels of alanine transaminase(ALT) and aspartate transaminase(AST). However, those losses were compensated by cricket extracts treatment at the level of 200 mg/kg. These findings indicate that cricket extracts may have protective effects against TCDD-induced toxicities in rats.

Key Words : *Gryllus bimaculatus*, Cricket extracts, TCDD, Lipid metabolism, Liver toxicity

I. 서 론

다이옥신(dioxin)계 화합물은 최근 환경호르몬 혹은 내분비 교란물질이라 불리며 전 세계적인 문제가 되고 있다. 환경호르몬이란 생체의 호르몬 분비기능에 변화를 주는 외인성 내분비 교란물질로서, 세포의 호르몬 수용체와 결합하여 호르몬과 같은 역할을 하거나 정상적인 호

교신저자 : 황석연, (우)360-240 충북 청주시 흥덕구 개신동 62
충북대학교병원 진단검사의학과
Tel : 043-261-6257
E-mail : syhwang@cbnuh.or.kr

르몬과 수용체의 결합을 방해하는 것으로 알려져 있다(장 등, 2001). 또한 환경에 오염된 이들 환경호르몬이 먹이 사슬을 통해 유입(Abraham 등, 1988)되면 생체 내 지방 조직에 주로 축적되어 광범위한 독성을 유발한다(안 등, 2002). 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD) 및 polychlorinated biphenyls (PCBs) 등의 환경호르몬은 열, 산, 알칼리 등에 매우 안정하고, 광분해에 의해 탈염소화되기 쉬우나, 미생물에 의한 분해는 거의 일어나지 않으며, 이러한 물리화학적 성질 때문에 일단 환경 중에 방출되면 거의 분해되지 않는다(강 등, 2002; Pitot 등, 1980). 그 중에서도 가장 강력한 독성을 가진 환경호르몬으로 알려진 TCDD는 에스트로겐과 유사한 작용을 하므로 내분비계를 혼란시키며, 그 결과 체중 감소(Poland와 Knutson, 1982), 생식기 기형 및 기능 저하, 간 독성(Buu-Hoi 등, 1972; Hook 등, 1975; Matsumura 등, 1984; Brewster 등, 1989), 정신 지체 및 행동장애 발생이상, 흉선의 위축(Mcconnel, 1980; Dean 등, 1984)등과 같은 독성 작용이 유발된다. 그 외에도 류마티스 관절염, 퇴행성 뇌질환과 같은 다양한 만성질환(하, 2003)과도 관련이 있는 것으로 생각되며 지질대사 이상으로 고지혈증, 고콜레스테롤혈증, 지질과산화, 탄수화물대사 이상 등을 유발하는 것으로 알려져 있다(신 등, 1996).

다이옥신의 이러한 독성기전은 지용성이 크므로 세포막을 확산하여 세포질에 있는 아세틸콜린 수용체와 결합을 하고 이 복합체는 핵 안으로 들어가 DNA와 결합하여 cytochrome-p-450을 증가시켜 독성을 유발하는 것으로 알려져 있다(신 등, 1996; Matsumura 등, 1992). 그뿐만 아니라 다이옥신은 햄스터에서 피부암, 마우스 및 rat에서 구강, 비강, 폐, 간, 갑상선, 부신피질, 흉선 등에서 암을 유발하는 것(Poland와 Knutson, 1982)으로 알려져 있는데 DNA를 손상시키지는 않으므로 돌연변이원은 아니라고 알려져 있지만 아세틸콜린 수용체를 경유하여 암 발생을 촉진하는 것으로 보고되었다(강 등, 2002; Jon 등, 1987; Breslin 등, 1988).

최근 들어 곤충의 다양성과 특성을 새롭게 인식하고 건강에 관심이 높아지면서 곤충의 생리활성물질을 산업적으로 이용하거나 의약품을 개발하는 데 일부 곤충이 이용되고 있다. 그 중 귀뚜라미는 예로부터 민간요법으로 사용되어져 왔는데 어린아이의 경기나 고열에 사용하면 효과가 있으며 일본에서는 성충을 설사와 이질, 장티푸스에 치료제로서 사용하였다. 또한 17세기 유럽에서는 귀뚜라미의 침출액을 결석을 치료하는 약 또는 이뇨제로 사

용한 흔적이 있으며 이외에도 방광의 신경마비 또는 수뇨관의 경련, 심인성 수종, 노인의 소변장애, 부인의 난산 등에 사용하였다(박, 2001; 안 등, 2002).

TCDD와 같은 환경호르몬의 광범위한 독성에 대해 임상적으로 효과가 인정되는 약물은 거의 전무한 실정이며 현재는 유효한 천연약물 탐색이 많은 연구자에 의해 이루어지고 있다. 이러한 연구의 일환으로 본 연구에서는 남방귀뚜라미(*Gryllus bimaculatus*) 추출물을 실험동물에 14일간 전투여한 후 TCDD를 투여해 독성을 유발하였으며, 이후 14일간동안 관찰하고 부검하여 체중의 변화, 혈액생화학적 검사, 각 장기중량의 측정 및 간의 독성병리학적 검사를 수행함으로써 TCDD에 의한 rat의 전신 독성에 대한 보호효과를 연구하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육조건

Sprague-Dawley계 수컷 rat(200±20g)를 (주)샘타코바이오코리아(경기도 오산)로부터 구입하여 7일간 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 실험동물은 표준적인 사육조건으로서 온도(23±2℃), 상대습도(50±10%), 및 명암주기(12시간)가 조절되는 환경에서 사육하였고, 실험동물용 고품사료 ((주)샘타코바이오코리아, 오산)와 식수를 제한 없이 공급하였다.

2. TCDD 용액의 제조

TCDD는 AccuStandard Inc.(New Haven, CT, USA)로부터 99.1% 이상 순도(가스크로마토그래피 분석)의 화합물을 구입하였다. TCDD(2mg)는 미량의 DMSO(50μl)와 아세톤(450μl)에 녹인 다음 corn oil(4.5ml)에 희석한 것을 stock solution(400μg/ml)으로 하였으며, working solution은 TCDD의 최종농도가 60μg/ml이 되도록 corn oil로 희석한 다음 실험에 사용하였다.

3. 귀뚜라미 추출물의 제조

시험 원료물질인 귀뚜라미는 (주)다농네츄럴(충북 충주)에서 분양 받았으며 항온실(온도 28℃, 암조건, 상대습도 60%)에서 인공사료로 사육하였다. 성충을 대상으로

-20℃에서 보관하여 시료로 사용하였다. 시료 1kg에 물 2 l를 넣어 중탕기에서 2시간 동안 중탕하여 거름종이로 거르고, 증류기와 동결건조기에서 완전 건조시켜 실험에 사용하였다.

4. TCDD 및 귀뚜라미 추출물의 투여

7주령의 rat 수컷 35마리를 7마리씩 5개 군으로 분류한 다음, G1과 G2에는 생리식염수를, G3과 G4, G5에는 각각 체중 kg당 50mg과 100mg, 200mg의 귀뚜라미 추출물(YCY; extracts of cricket)을 매일 1회씩 14일간 경구로 투여하였다. 또한 실험개시 2주차에 1군에는 corn oil을, 2-5군에는 체중 kg당 60µg의 TCDD를 복강 투여하였으며, TCDD투여 후 2주간의 관찰기간을 두었다(Fig. 1).

5. 체중 및 장기중량의 측정

체중은 1주에 2회 측정하였으며, 실험 종료 후 실험동물은 ether로 마취하고 복대동맥으로 채혈하였다. 채혈 후 간, 비장, 신장(좌, 우), 고환(좌, 우), 부고환(좌, 우), 전립샘, 심장, 폐, 흉선, 부신(좌, 우), 갑상샘(좌, 우), 악하샘(좌, 우), 뇌의 장기중량을 측정하였다.

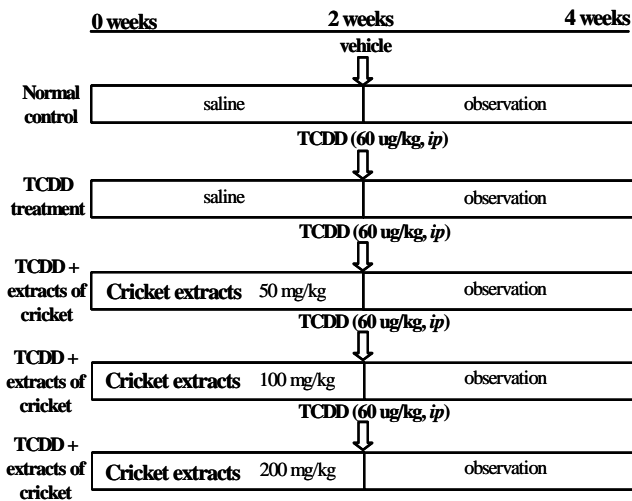


Fig. 1. Protocol for study of preventive effects of cricket extracts against toxicity induced by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rats. This study was used 7-week-old Sprague-Dawley male rats. Thirty five male rats were divided 5 groups: normal control group received vehicle and saline; TCDD-treated group received single intraperitoneal injection of TCDD(60µg/kg) and saline; preventive groups received cricket extracts (50, 100, 200 mg/kg) for 2 weeks before TCDD treatment.

6. 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사는 부검시에 18시간 절식시킨 후 에테르 마취하에 복대동맥에서 채혈하여 얻은 혈액을 실온에 30분간 방치하여 응고시킨 다음 원심분리(3000 rpm, 15 min)해서 얻은 혈청에 대하여 alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), triglyceride, cholesterol, high-density lipoprotein(HDL), low-density lipoprotein(LDL), glucose, creatinine, total protein, albumin, uric acid, blood urea nitrogen (BUN), calcium, inorganic phosphate치를 생화학자동분석기(Hitachi-747; Hitachi medical co, LTD, Japan)를 이용하여 측정하였다.

7. 독성병리학적 검사

장기를 적출하고 중량을 측정한 다음, 10% 중성포르말린용액에 고정하였다. 장기조직은 3일 이상 충분히 고정한 후 자동조직처리기에서 탈수 및 파라핀 침투과정을 거친 후, 파라핀 포매기로 포매하였다. 포매한 조직을 rotary microtome으로 4µm 절편을 만들어 H&E 염색을 수행하여 광학현미경으로 검사하였다.

8. 통계학적 분석

대조군과 실험군 간의 체중변화, 장기중량 및 혈청생화학적 검사에 대한 실험결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, student's t-test법을 이용하여 통계적인 유의차를 분석하였으며, 유의차가 5% 미만일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

III. 결 과

1. 임상증상 및 체중변화

실험 전 기간 동안 모든 군에서 폐사한 동물은 없었다. 그러나 TCDD를 투여한 모든 군에서 피모가 거칠게 관찰되었고, 행동과 섭식이 양호하지 못하였다. 특히 TCDD 단독투여군에서 이러한 외관상의 변화는 매우 현저하게 관찰되었다.

체중변화에 있어서는 시험물질 투여기간 동안 모든 군

의 체중이 지속적으로 증가하였으나, TCDD를 투여하고 14일의 관찰기간 동안에는 정상대조군을 제외한 모든 군에서 TCDD 투여 후 7일째부터 체중의 지속적인 감소가 관찰되었다. TCDD 투여 후 14일째에는 정상대조군(361.74±23.92g)에 비해 TCDD 단독투여군(317.78±21.53g)에서 유의하게 체중의 감소가 관찰되었으며(p<0.01), 저용량 및 중용량의 귀뚜라미 추출물 투여군(321.42±35.59, 325.30±25.20g)에서도 유의한 감소가 관찰되었다(p<0.05). 그러나 고용량의 귀뚜라미 추출물 투여군(339.28±34.76g)에서는 이러한 체중의 감소가 다소 억제되고 있는 경향을 보였다(Fig. 2).

2. 간의 상대 장기중량의 변화

간의 중량은 TCDD 단독투여군(4.56±0.37%) 및 귀뚜라미 추출물 50, 100, 200mg/kg 투여군(5.01±0.36, 4.74±0.17, 4.36±0.76%) 모두에서 정상대조군(2.75±0.14%)에 비해 유의하게 증가하였다(p<0.01, Fig. 3, Table 1, 2).

3. 혈청 내 효소활성 변화

AST 활성도에 있어 TCDD 단독투여군(744.46±

314.83IU/L)의 경우 정상대조군(168.77±15.01IU/L)에 비해 유의하게 증가하였으나(p<0.01), 50, 100, 200mg/kg의 귀뚜라미 추출물의 투여군(257.74±145.23, 195.84±145.23, 289.60±110.72IU/L)에서는 TCDD 단독투여군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.01).

또한 ALT 활성도에 있어서도 귀뚜라미 추출물 50, 100, 200mg/kg 투여군(46.55±13.73, 37.93±6.24, 39.75±6.35IU/L) 모두에서 TCDD 단독투여군(75.63±26.59IU/L)에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.01, p<0.05, Table 3).

4. 지질대사에 미치는 효과

콜레스테롤은 정상대조군에 비하여 TCDD 단독투여군에서 유의하게 증가하였으며, triglyceride와 LDL은 모두 현저하게 증가(50.29±7.32, 17.14±5.19mg/dl)하였다(p<0.01). 한편 귀뚜라미 추출물 투여군에서는 TCDD 단독투여군에 비하여 모두 억제되는 경향을 보였으며, 특히 귀뚜라미 추출물 중용량군(100mg/kg)에서 유의하게 감소하였다(Table 4.).

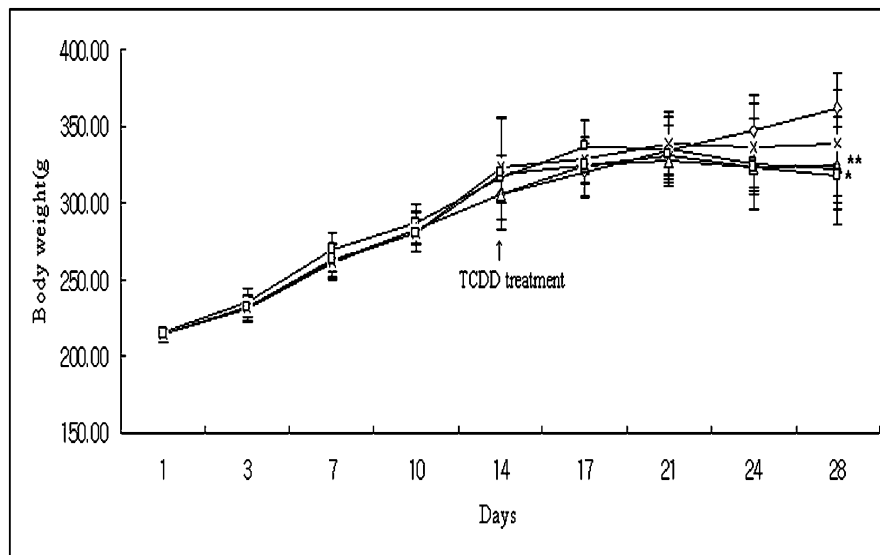


Fig. 2. Change in body weights of male rats orally administered with cricket extract or saline for 2 weeks before TCDD treatment.

◇: normal control; -: TCDD treatment; △: TCDD + cricket extract 50mg/kg; ×: TCDD + cricket extract 100mg/kg; □: TCDD + cricket extract 200mg/kg

*Significantly different from normal control(p<0.05).

**Significantly different from normal control(p<0.01).

Table 1. Effects of cricket extracts on absolute organ weights in male rats exposed to TCDD. (Unit: g)

Organ	Group	Normal control	TCDD treatment	TCDD+cricket extracts 50 mg/kg	TCDD+cricket extracts 100 mg/kg	TCDD+cricket extracts 200 mg/kg
Liver		9.64±0.88	14.94±1.86**	14.43±1.33**	13.71±1.73**	13.65±1.68**
Spleen		0.79±0.12	0.72±0.09	0.76±0.15	0.81±0.09	0.75±0.08
Kidney-L		1.28±0.14	1.22±0.10	1.20±0.06	1.25±0.11	1.14±0.13
Kidney-R		1.27±0.15	1.27±0.14	1.19±0.10	1.28±0.11	1.17±0.20
Testis-L		1.63±0.22	1.65±0.18	1.74±0.11	1.69±0.13	1.75±0.24
Testis-R		1.71±0.12	1.63±0.15	1.79±0.08	1.67±0.09	1.70±0.24
Epididymis-L		0.50±0.13	0.49±0.11	0.48±0.06	0.465±0.05	0.47±0.10
Epididymis-R		0.55±0.11	0.48±0.11	0.45±0.06	0.51±0.07	0.51±0.12
Prostate gland		0.61±0.21	0.26±0.11**	0.43±0.12	0.39±0.14*	0.45±0.16
Heart		1.19±0.12	1.13±0.12	1.11±0.24	1.08±0.10	1.04±0.07*
Lung		1.69±0.18	1.70±0.24	1.39±0.35	1.65±0.13	1.51±0.14
Thymus		0.67±0.09	0.13±0.03**	0.13±0.04**	0.20±0.20**	0.19±0.11**
Adrenal gland-L		0.030±0.00	0.034±0.02	0.026±0.01	0.026±0.01	0.029±0.00
Adrenal gland-R		0.029±0.00	0.032±0.02	0.028±0.00	0.030±0.01	0.027±0.01
Thyroid gland-L		0.011±0.00	0.011±0.01	0.013±0.00	0.012±0.00	0.023±0.04
Thyroid gland-R		0.010±0.00	0.011±0.01	0.013±0.00	0.012±0.00	0.007±0.00
Submaxillary gland		0.76±0.20	0.54±0.09*	0.52±0.10*	0.53±0.07*	0.54±0.10*
Brain		2.11±0.05	2.04±0.06*	1.98±0.09*	2.04±0.18	2.06±0.06

Values are mean ±S.D.(n=7)

*Significantly different from normal control(p<0.05).

**Significantly different from normal control(p<0.01).

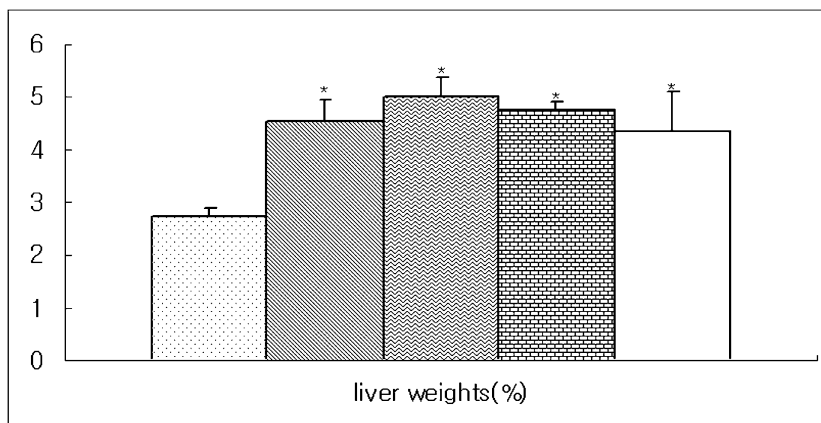


Fig. 3. Effect of cricket extract on relative liver weights in male rats exposed to TCDD.

* Significantly different from normal control(p<0.05).

▨: normal control; ▩: TCDD treatment; ▧: TCDD + cricket extract 50 mg/kg; ▦: TCDD + cricket extract 100mg/kg; □: TCDD + cricket extract 200 mg/kg

Table 2. Effects of cricket extracts on relative organ weights in male rats exposed to TCDD (Unit: %)

Organ	Group	Normal control	TCDD treatment	TCDD+cricket extracts 50 mg/kg	TCDD+cricket extracts 100 mg/kg	TCDD+cricket extracts 200 mg/kg
Liver		2.75±0.14	4.56±0.37**	5.01±0.36**	4.74±0.17**	4.36±0.76**
Spleen		0.23±0.03	0.25±0.03	0.25±0.05	0.25±0.05	0.26±0.04
Kidney-L		0.37±0.03	0.38±0.03	0.41±0.05	0.40±0.04	0.40±0.03
Kidney-R		0.36±0.04	0.39±0.05	0.43±0.05*	0.39±0.03	0.40±0.03*
Testis-L		0.47±0.08	0.59±0.08*	0.56±0.04*	0.57±0.06*	0.53±0.05
Testis-R		0.49±0.07	0.57±0.07	0.55±0.04	0.59±0.07*	0.53±0.04
Epididymis-L		0.14±0.04	0.16±0.03	0.16±0.04	0.16±0.02	0.15±0.02
Epididymis-R		0.16±0.03	0.17±0.04	0.16±0.02	0.15±0.02	0.16±0.02
Prostate gland		0.17±0.06	0.15±0.06	0.09±0.04* †	0.12±0.07	0.12±0.04
Heart		0.34±0.03	0.35±0.03	0.38±0.06	0.37±0.10	0.34±0.01
Lung		0.49±0.08	0.51±0.06	0.57±0.07*	0.45±0.09	0.52±0.04
Thymus		0.19±0.02	0.07±0.05**	0.04±0.01**	0.04±0.01**	0.06±0.05**
Adrenal gland-L		0.008±0.00	0.010±0.00	0.012±0.01	0.008±0.00	0.008±0.00
Adrenal gland-R		0.008±0.00	0.009±0.00	0.011±0.01	0.009±0.00	0.009±0.00
Thyroid gland-L		0.003±0.00	0.007±0.01	0.004±0.00	0.003±0.00	0.004±0.00
Thyroid gland-R		0.002±0.00	0.002±0.00	0.004±0.00	0.003±0.00	0.004±0.00* †
Submaxillary gland		0.22±0.05	0.18±0.03	0.18±0.03	0.17±0.03	0.17±0.03
Brain		0.60±0.04	0.70±0.08*	0.69±0.07*	0.65±0.06	0.64±0.06

Values are mean ±S.D.(n=7)

* Significantly different from normal control(p<0.05).

** Significantly different from normal control(p<0.01).

† Significantly different from TCDD treatment group(p<0.05).

Table 3. Effect of cricket extracts on liver function in TCDD-exposure male rat

Group (N)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	Alb (g/dl)	TP (g/dl)
G1(7).	168.77±15.01	57.63±10.63	1116.86±15.77	3.94±0.13	6.32±0.31
G2(7)	744.46±314.83**	75.63±26.59	104.43±21.35	4.29±0.15	6.79±0.42
G3(7)	257.74±145.23††	46.55±13.73 †	106.86±36.05	4.22±0.23	6.78±0.41
G4(7)	195.84±44.15††	37.93±6.24**††	94.43±29.31	4.38±0.16	6.99±0.20
G5(7)	289.6±110.72*††	39.75±6.35** †	81.57±13.94** †	4.19±0.12	6.67±0.21

Values are mean ±S.D.(n=7)

* Significantly different from normal control(p<0.05).

** Significantly different from normal control(p<0.01).

† Significantly different from TCDD treatment group(p<0.05).

†† Significantly different from TCDD treatment group(p<0.01).

AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine aminotransferase, ALP; alkaline phosphatase, TP; total protein, Alb; albumin,

G1: normal control; G2: TCDD treatment; G3: TCDD+cricket extracts 50mg/kg; G4: TCDD+cricket extracts 100mg/kg

G5: TCDD+Cricket extracts 200mg/kg

Table 4. Effect of cricket extracts on lipid metabolism in TCDD-exposure male rat

Group(N)	Cho (mg/dl)	TG (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
G1(7)	64.57±8	45.14±16.38	44.83±2.88	10.11±3.77
G2(7)	93.86±20.75**	50.29±7.32	150.31±248.68	17.14±5.19*
G3(7)	110.86±32.78**	83.14±10.95**††	66.53±15.46*	19.81±11.2
G4(7)	81.86±16.15*	58.86±10.01	54.73±8.98*	11.23±2.83# †
G5(7)	89.43±33.93	74.57±40.94**	54.11±15.64	12.20±9.36

Values are mean ±S.D.(n=7)

* Significantly different from normal control(p<0.05).

** Significantly different from normal control(p<0.01).

† Significantly different from TCDD treatment group(p<0.05).

†† Significantly different from TCDD treatment group(p<0.01).

Cho; cholesterol, TG; triglyceride, HDL; high density lipoprotein, LDL; low density lipoprotein

Table 5. Effect of cricket extracts on inorganic matter and renal function in TCDD-exposure male rat.

Group(N)	Ca ²⁺ (mg/dl)	I P (mg/dl)	Cre(mg/dl)	BUN(mg/dl)	UA(mg/dl)
G1(7).	10.96±0.32	7.53±0.52	0.52±0.01	16.00±1.73	0.55±0.22
G2(7)	13.73±1.11**	8.22±0.83	0.59±0.05*	25.14±3.34**	0.32±0.33
G3(7)	13.53±2.05*	7.57±1.17	0.55±0.04	24.29±3.55**	0.35±0.33
G4(7)	12.50±0.77** †	7.33±0.42 †	0.56±0.03**	23.29±3.90**	0.16±0.12**
G5(7)	13.44±0.84**	7.12±0.81 †	0.52±0.03 †	22.43±3.41**	0.28±0.33

Values are mean ±S.D.(n=7)

* Significantly different from normal control(p<0.05)

** Significantly different from normal control(p<0.01)

† Significantly different from TCDD treatment group(p<0.05)

Ca; calcium, IP; inorganic phosphorus, Cre; creatinine, BUN; blood urea nitrogen, UA; uric acid

5. 신장기능에 미치는 효과

BUN에 있어서는 TCDD 단독투여군의 경우 정상대조군에 비하여 유의하게 증가(25.14±3.34mg/dl; p<0.01)하였으며, 귀뚜라미 추출물 고용량 투여군(200mg/kg)에서만 감소(22.43±3.41mg/dl; p<0.01)하였다. 요산의 경우에 있어서는 귀뚜라미 추출물 중용량 투여군(100mg/kg)에서 감소하는(0.16±0.12mg/dl; p<0.01) 경향이 보였다. 크레아티닌과 칼슘, 인에서는 유의한 변화가 관찰되지는 않았다(Table 5).

6. 독성병리학적 검사

TCDD 단독투여군에서 간세동이(portal triad) 주변을 위주로 해서 염증세포의 침윤이 관찰되었으며, 이러한 염증세포는 간세동이 주변뿐만 아니라 간소엽 전반에 걸쳐 국소적(focal)으로 침윤되는 양상을 보였다. 또한 간소엽 전반에 걸쳐 심한 공포화현상이 관찰되었으나, 이러한 병변은 귀뚜라미 추출물의 투여로 인해 억제되는 경향을 나타내었으며, 특히 귀뚜라미 추출물 고용량 투여군(200mg/kg)에서는 공포화 현상 및 염증세포 침윤이 거의 보이지 않았다(Fig. 4).

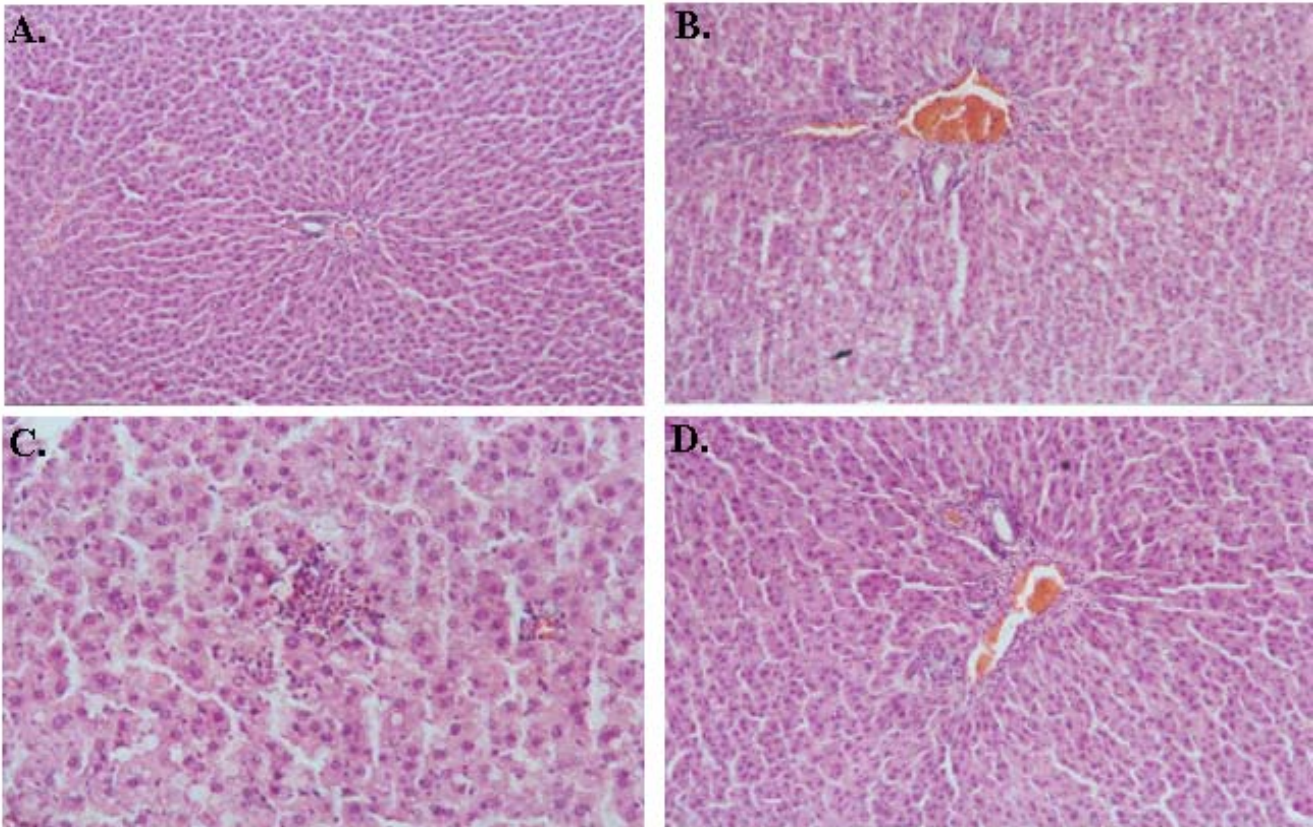


Fig. 4. Histological finding of rat liver tissues treated with TCDD or cricket extract. Severe vacuolations and inflammation cell infiltrations around portal triad are shown in TCDD-treated rats (B, C), but these findings are reduced by Cricket extracts 200 mg/kg treatment (D). There are no lesions in the normal control (A). H&E.

IV. 고 찰

TCDD에 의한 독성으로 기니피그(황 등, 2002), Rat (Tuomisto 등, 2000; Brian 등, 2001), 마우스(Matsumura 등, 1997) 등의 대부분 실험동물에서 체중이 감소하는 것으로 보고되고 있다. 본 연구에서도 TCDD 단독투여군에서의 체중증가율(48.2%)은 정상대조군(68.2%)에 비해 현저히 감소하였으나 50, 100, 200mg/kg의 귀뚜라미 추출물 투여군(49.2, 51.8, 58.5%)에서는 용량의존적으로 증가하였다. 따라서 귀뚜라미 추출물은 TCDD에 의한 체중감소에 대한 방어효과가 있음을 시사한다고 할 수 있겠다.

신장은 생체의 대사과정에서 생긴 불필요한 노폐물을 체외로 배설시키고, 체액의 전해질 및 pH 조절을 통하여 신체의 항상성을 유지시켜 주는 중요한 역할을 담당함과 동시에, 항이노 호르몬 생성에 중요한 역할을 하는 내분비 기능에도 관여한다. 신장 독성을 일으키는 물질은 매우 다양하며, 그 독성양상 역시 동물에 따라 차이가 있다.

아직 명확하게 그 기전이 밝혀지지는 않았지만 이와 같이 신장이 독성 물질의 표적이 되는 이유는 혈류량이 많고, 노폐물을 여과시키는 과정에서 혈액에 함유된 독성물질에 그만큼 노출될 기회가 높고, 일시적으로 저장되는 동안 독성물질의 농축이 일어나기 때문이라 생각된다. 본 연구에서 BUN(blood urea nitrogen)은 TCDD 단독투여군에서 정상대조군에 비해 57.1%가 증가하였으나 귀뚜라미 추출물 200mg/kg 투여군에서 40%의 증가를 나타내었다. Kirschi 등(1975)은 TCDD가 간과 신장에 GSH-S-aryltransferase의 활성을 증가시킨다고 보고하였으며, 이 효소의 세포 내 농도 변화는 신장세포에서 무기이온의 운반용량에 영향을 주고 TCDD의 선택적 작용에 의해 영향을 받는다고 하였다. 본 연구에서도 TCDD 단독투여군에서 BUN의 유의적인 증가를 볼때 TCDD를 투여한 경우 신장에 손상을 가져오는 것으로 판단되며 귀뚜라미 추출물을 투여한 경우 용량의존적으로 BUN이 감소하여 회복되는 결과를 보였다. 크레아티닌과 칼슘, 인에서는

통계적인 유의성은 인정되지 않았다.

TCDD는 현재까지 사용되고 있는 모든 동물종에서 간장의 비대를 일으키는 것으로 알려져 있는데 이는 TCDD가 cytochrome P-450 효소계에 영향을 미침으로써 유발되는 무과립형질내세망(SER)의 비대로 인한 간실질세포의 과형성과 비대에 기인하는 것으로 알려져 있다(Lucier 등, 1991). 이러한 변화는 microsomal monooxygenase의 활성증가에 따라 나타나게 되며(Chapman 등, 1985), 또한 TCDD로 인해 간장이 손상을 받으면 간세포의 파괴 내지 염증에 기인한 세포막의 투과성이 항진되어 ALT, AST 등의 효소를 포함한 세포내 물질이 혈중으로 유출되어 효소들의 혈중농도와 활성이 증가하게 된다(황 등, 2002). AST, ALT는 모든 장기에 존재하나 AST의 경우 심장, 간, 골격근에 많이 존재하는 반면, ALT는 간세포 특이성이 높은 것이 특징이다. 결국 혈중 ALT 활성은 Disse 장내로 유리된 효소활성을 나타낸다. 간 기능이 손상되면 총단백질 또는 알부민수치가 감소하고 AST, ALT 및 ALP가 상승하며, 총 bilirubin, direct bilirubin 함량 및 γ -GTP활성 등이 증가한다고 알려져 있다(신 등, 1996; Greig 등, 1973).

본 실험 역시 TCDD의 투여로 인해 이러한 간장의 비대와 그로 인한 상대 장기중량의 증가, 그리고 혈중 효소 활성도의 증가가 나타났으며 이러한 경향은 귀뚜라미 추출물의 투여로 인해 개선되는 경향을 나타내었다. 세포의 손상이 가벼운 경우 세포막이 파괴되지 않고 효소가 밖으로 유출된다. 이는 세포내의 에너지 공급이 감소된 결과로서 세포내의 K^+ 이온이 세포외로 유출되고 Na^+ , Ca^{2+} 및 수분이 체내로 유입되면서 그 결과 세포는 팽창되고, 세포막이 늘어나게 된다(신 등, 1996; Greig 등, 1973).

또한 독성병리학적 검사에 있어서도 정상대조군에서는 아무런 변화가 없는 반면(Fig. 4A)에 TCDD 단독투여군은 간세포 주변을 위주로 염증세포의 침윤이 관찰되었으며, 이러한 염증세포는 간세포 주변 뿐만 아니라 간소엽 전반에 걸쳐 침윤되는 양상을 나타내었으며 심한 공포화 현상이 관찰되었는데(Fig. 4B, C), 이는 황 등(1999)에 의한 결과와 일치하는 것이다. 그러나 고용량의 귀뚜라미 추출물 투여군(200mg/kg)에서는 이러한 염증세포의 침윤 및 공포화 현상이 현저히 감소하는 경향(Fig. 4D)을 나타내었는데 이는 귀뚜라미 추출물이 TCDD에 의한 간세포의 형태학적인 손상을 개선시키는 것으로 생각된다.

V. 결 론

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)에 대한 독성 및 생물농축은 인간 및 다양한 생물종에서 연구가 진행되고 있으며, 인간에서 TCDD의 노출은 먹이연쇄를 통해 이루어진다. 따라서 본 연구에서는 dioxin(TCDD)의 독성을 경감시킬 수 있는 천연물을 탐색하고자 TCDD에 노출된 rat에서 임상적인 생화학적 지표 및 간독성에 대한 귀뚜라미 추출물의 보호효과를 조사하였다. Rat에 TCDD 60 μ g/kg을 단회 복강투여하였으며, 귀뚜라미 추출물은 TCDD 투여 2주일 전부터 50, 100, 200mg/kg을 경구투여하였다. 체중의 증가율은 TCDD 단독투여군의 경우 감소한 반면, 귀뚜라미 추출물 투여군의 경우 용량의존적으로 증가하였다. TCDD의 독성에 의한 AST, ALT, 콜레스테롤, TG, LDL, BUN 등의 변화정도는 귀뚜라미 추출물 투여한 경우에 용량의존적으로 회복되었다. TCDD 단독투여군에서는 간소엽 전반에 걸친 염증세포의 침윤 및 공포화 현상이 관찰되었으나 고농도의 귀뚜라미 추출물 투여에 의해 다소 회복되었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 귀뚜라미 추출물은 TCDD의 독성에 대해 보호효과가 있는 것으로 판단되어진다. 따라서 간의 이물질대사 효소계 및 귀뚜라미 추출물의 활성성분에 대해서도 좀 더 깊은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Ahn MY, Lee YW, Kang SR, Lee HS, Kim IS, Kim JW, Lee YK, Kim ES, Kim YS. Protective effects of water/methanol extracts of cricket on the acute hepatic damages in the ICR-mice induced by administration of CCl_4 . *Korean J Food SCI. TECHNOL* 34(4): 684-687, 2002
2. Abraham K, Krowke R, Neubert D. Pharmacokinetics and biological activity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Arch Toxicol* 62:359-368, 1988
3. Breslin P. Proportionate mortality study of US army and US marine crops veterans of the vietnam war. *J of Occupational Medicine* 30(5):412-419, 1988
4. Brewster DW, Matsumura F. Differential effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on adipose tissue lipoprotein lipase activity in the guinea pig, rat,

- hamster, rabbit and mink. *Comp Biochem Physiol* 93C (1):49-53, 1989
5. Brian KP, Xin Gao, Karl KR, Paul FT. The effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD) on weight gain and hepatic ethoxyresorufin-o-deethylase(EROD) induction vary with ovarian hormonal status in the immature gonadotropin-primed rat model. *Reproductive Toxicology* 15(3): 269-274, 2001
 6. Buu-Hoi, Harris NP, Moore JA, Vos JG. Organism as targets of 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD) in toxication. *Naturwiss* 59:174, 1972
 7. Dean JH, Lauer LD, William K. Immunological effects following exposure to 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-*p*-dioxin a review. p275-294, Los Altos Calif, 1984
 8. Matsumura F, Essam E, Debra YD, Kent EP, Janice P. Altered in vivo toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD) in c-src deficient mice. *Biochemical Pharmacology*, 53(10):1397-1404, 1997
 9. Matsumura F, Kathryn T, Essam E, David WB, Hugh O. Stimulation of c-ras expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Chemosphere* 25(7-10):959-966 1992
 10. Greig JB, Jones G Butler WH, Barnes JH. Toxic effect 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-*p*-dioxin. *Food Cosmet Toxicol* 11:585-595, 1973
 11. Ha BJ, Ha JM, Lee SH, Lee JH, Kim MS. Effects of houttuynia cordata thunb on lipidperoxide and Cholesterol in 2,3,7,8-TCDD-damaged Rats. *J Fd Hyg Safety* 18(2):56-60, 2003
 12. Hook GE, Haseman RJK, Lucier GW. Induction and suppression of hepatic and extra-hepatic microsomal foreign compound metabolizing enzyme system by 2,3,7,8-TCDD. *Chem Biol Interact* 10:199-214, 1975
 13. Hwang SY, Jeong HS, Wee JJ, Sung RH, Kim SK. Histopathological study on the protective effect of korean red ginseng on TCDD-induced acute toxicity in male guinea pig. *J Ginseng Res* 23(4):222-229, 1999
 14. Hwang SY, Yang JB, Chang CS, Kim TU, Lee HC. Effect of chitosan on the lipid metabolism in treated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rats. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 16(4):782-787, 2002
 15. Hwang SY, Yang JB, Chang CS, Kim TU, Lee HC. Protective effect of cornu cervi parvum extract on toxicity induced by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rat. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 16(4):674-679, 2002
 16. Hwang SY, Youn NY. Effect of korean red ginseng crude saponin on blood chemical parameters of guinea pigs exposed to TCDD. *J Biomed Sci* 9(1):43-49, 2002
 17. Jang HS, Nam SY, Kang JK. Protective effects of bear bile against hepatotoxicity induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD) in mice. *Kor J Pharmacogn* 32(2): 121-127, 2001
 18. Jon CC, Karen MD, William FG. An *in vitro* model for studying the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin to human thymus. *Toxicology and Applied Pharmacology* 89(2):256-268, 1987
 19. Jouni TT, Matti V, Raimo P, Jouko T. Changes in food intake and food selection in rats after 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD) exposure. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 65(3): 381-387, 2000
 20. Kang YS, Park JS, Min BY. Residue and risk assessment of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin/dibenzofurans in the korean population. *Analytical SCI & TECHNOL* 15(3):270-286, 2002
 21. Kirschi R, Fleischer KK, Arias IM. Effect of renal function in the rat. *J Clin. Invest* 55. 1009, 1975
 22. Lee HC, Hwang SG, Lee YG, Sohn Ho, Lee DW, Hwang SY, Kwak YS, Wee JJ, Joo WH, Cho YK & Moon JY. *In vivo* effects of Panax ginseng extracts on the cytochrome P450-dependent monooxygenase system in the liver of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-exposed guinea pig. *Life Sciences* 71:759-769, 2002
 23. Lucier GW, Tritscher A, Goldsworthy T, Foley J, Clark G, Goldstein J, Marenpot R. Ovarian hormones enhance TCDD-mediated increases in cell proliferation and preneoplastic foci in a two stage model for rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 51:1391-1397, 1991

24. Matsumura F, Brewster DW, Madhuker BV, Bombick DW. Alteration of rat hepatic plasma membrane function by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, *Arch Environ. Contam Toxicol* 13:509-515, 1984
25. Mcconnel E. Acute and chronic toxicity. Carcinogenesis, reproduction, teratogenesis and mutagenesis in animals. *Eisevier North-Holland Biomedical Press*. p241-266, *New York*, 1980
26. Pitot HC, Coldsworthy T, Campbell HA, Poland A. Quantitative evaluation of the promotion by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin of hepatocarcinogenesis from dimethyl nitrosamine. *Cancer Res* 40:3616-3620, 1980
27. Poland A, Knutson JC. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 22:517-554, 1982
28. Shin DC, Ahn HW, Lee JT, Chung Y. Adverse health Effects from 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin exposure: review. *Korean J of Environ Toxicol* 11(3):75-87, 1996
29. 박규택. 자원곤충학. p7-221, 아카데미서적, 서울, 2001