

게르마늄을 함유한 상추의 단일 경구투여 독성 검사

김종진 · 최지나 · 조주식¹⁾ · 허종수²⁾ · 이성태*

순천대학교 생명산업과학대학 생명과학부 생물학전공, ¹⁾생물환경학전공, ²⁾경상대학교 농생명학부
(2009년 3월 19일 접수, 2009년 3월 26일 수리)

Oral Single-dose Toxicity Studies on Germanium-fortified Lettuce, in Mouse

Jong-Jin Kim, Jina Choi, Ju-Sik Cho¹⁾, Jong-Soo Heo²⁾, and Sung-Tae Yee* (Dept. of Biological Science, ¹⁾Dept. of Bio-Environmental Science, College of Life Science and Natural Resources, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea, ²⁾Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea)

ABSTRACT: Single-dose toxicity test of germanium-fortified lettuce was investigated in mice. Both sexes of C57BL/6 mice were orally administered once at a dose of 2,000 mg/kg. No death, clinical signs and pathological findings related to the treatment were observed. In addition, no significant changes in feed consumption and body weight gain were obtained during the treatment period, in spite of day-to-day fluctuation of water consumption. There were no considerable changes in hematology and serum biochemistry, except a significant decrease in GPT, GOT and LDH. Several alterations were observed in organ weight and blood biochemistry, including thymus, ovaries, heart, kidney and platelet in male or female mice. The ability of spleen cells proliferation was almost same level as shown in control group. However the population of B cells, helper T cells and cytotoxic T cells was not comparably changed in all groups. Taken together, it is suggested that single oral dose of germanium-fortified lettuce to C57BL/6 mice did not cause apparent toxicological change at the dose of 2,000 mg/kg body weight.

Key Words: Germanium, Lettuce, GeO₂, Ge₁₃₂, Toxicity, B cells, T cells

서 론

게르마늄(Germanium)은 무기게르마늄(GeO₂)과 유기게르마늄(Ge₁₃₂)으로 분류할 수 있는데, 유기게르마늄은 항종양 효과¹⁾, 항돌연변이 효과²⁾, 자연살해세포와 대식세포의 활성화에 의한 면역강화 작용³⁾과 바이러스 감염 치료 효과⁴⁾, 관절염 치료 효과와 같은 항염증 효과^{5,6)}, 중금속 해독 효과⁷⁾ 및 운동성 증가 효과⁸⁾ 등의 다양한 약리작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 유기게르마늄의 다양한 생리활성 작용을 이용하기 위하여 다양한 생물체를 이용한 무기게르마늄의 유기게르마늄화가 시도되고 있다. 즉 토양의 낮은 게르마늄 함량으로 작물체중 게르마늄 농도가 낮기 때문에, 무기게르마늄을 사용하여 유기게르마늄화하기 위한 효과적인 농축 수단으로 다양한 연구들이 수행되었는데, 실제로 무기

게르마늄을 유기게르마늄화하기 위한 수단으로 효모⁹⁻¹¹⁾를 이용하거나, 몇몇 연구자는 작물체로서 벼¹²⁾, 상추^{13,14)}, 콩나물¹⁵⁾, 인삼¹⁶⁾ 등을 이용하였다. 그러나 무기게르마늄(GeO₂)을 장기 복용한 환자에서 빈혈, 신기능장애, 신경병증, 근육장애를 유발하는 것으로 알려져 있으며^{17,18)}, 실험동물에서도 신기능 장애^{19,20)}, 근육장애²¹⁾, 신경장애²²⁾를 일으키는 것으로 보고되었다. 즉 실험동물인 rat에 매일 GeO₂(150 mg/kg)을 13주 동안 경구 투여하였을 때, 신장 기능의 이상을 나타내는 혈중 urea 농도 증가, creatinine clearance 감소 현상이 나타났고, 체중 감소, 빈혈, 저단백혈증이 관찰되었으며, 소변과 신장조직의 게르마늄 농도가 증가하였다²⁰⁾. 그리고 간 기능의 이상을 나타내는 GOT와 GPT도 증가하였다¹⁹⁾. 무기게르마늄을 장기간 투여하였을 때 근육세포 내 미토콘드리아의 cytochrome c oxidase 활성이 감소하였고 고밀도물질이 미토콘드리아에 축적되었다²¹⁾. 그리고 6개월 이상 장기간 투여하였을 때 나타나는 신경장애의 경우에 schwann 세포의 세포질이 증가하였고 미토콘드리아 내에 고밀도물질이 축적

*연락처:

Tel: +82-61-750-3618 Fax: +82-61-750-3208
E-mail: sungtae@sunchon.ac.kr

되는 이상이 관찰되었다²²⁾. 무기게르마늄으로 인한 급성 신부전증과 신장기능 이상으로 보고된 18명의 환자 중에서 2명은 급성 신부전증과 심장 이상으로 사망하였다는 보고²³⁾도 있으며, 무기게르마늄을 18개월간 장기 복용한 여자 성인의 경우 비장, 갑상선, 근육, 소장, 신피질 등에서 특히 많이 발견되었다고 보고²⁴⁾하였다.

반면, 1967년 Asai Germanium Research Institute에서 무기물인 이산화게르마늄으로부터 합성한 유기게르마늄인 Ge-132(carboxyethylgermanium sesquioxide)를 이용한 독성시험 결과로 rat에 3개월 동안 최대 5 g/kg을 경구 투여하였을 때, 특이할 만한 독성증상을 나타내지 않았으며^{25,26)}, 생식독성·최기형성 시험에서도 최대 1 g/kg을 투여하여도 특이적인 독성증상이 나타나지 않는 것으로 보고되었다^{27,28)}. 개를 사용한 만성독성시험에서도 최대 500 mg/kg을 투여하여도 독성증상은 나타나지 않는 것으로 나타났다²⁹⁾.

현재 다양한 종류의 게르마늄 관련 농자재가 농업에 사용되고 있으나 농자재와 게르마늄함유 농산물에 대한 게르마늄 함량이 얼마인지 불분명한 상태에서 농산물이 유통되고 있으며, 기능성을 목적으로 게르마늄을 사용하고 있지만 게르마늄함유 농산물의 기능성 검정에 대한 연구는 아직 충분치 이루어지고 있지 않다. 따라서 게르마늄함유 농자재와 농산물 중 게르마늄 함량을 분석하여 문제점을 파악하고 농작물의 게르마늄 흡수 효율을 높이기 위해 흡수 전이가 쉬운 게르마늄 농자재 개발이 필요하며, 작물에 있어 게르마늄 적정 처리 농도 설정과 게르마늄 흡수특성 구명이 필요하다. 또한 생산된 게르마늄함유 농산물이 유기게르마늄화 되었는지에 대한 증명과 기능성 검정에 의한 게르마늄 농산물의 안전성 연구가 절실히 필요하다.

본 연구에서는 유기게르마늄과 무기게르마늄을 첨가하여 양액 재배한 상추의 안전성 평가의 일환으로, 단회 투여 시 나타날 수 있는 독성을 평가하고자 게르마늄 함유 상추의 생쥐(C57BL/6)에 대한 단회 경구 독성시험을 독성시험기준(식품의약품안전청고시, 제 1999-61호)을 참고하여 수행하였다.

재료 및 방법

게르마늄함유 상추

공시게르마늄이 함유된 상추 시료는 홍농종묘의 레드선 적축면상추(*Lactuca sativa* L.)를 사용하였다. 파종 후 4주간 키운 육묘를 소액담액경 (L56 × W44 × H15 cm)에 14×14 cm간격으로 정식하여 3주간 재배한 상추의 지상부와 지하부 모두를 70°C로 건조하여 마이크로분쇄기(HMF-340, GMBH, Germany)로 분말상태로 분쇄하여 사용하였다. 양액 내 게르마늄 처리는 일본원예시험장 표준양액 1/2배액에 유기게르마늄[Ge-132, carboxyethyl germanium sesquioxide 3(GeCH₂COOH)₂, Sigma]과 무기게르마늄 [GeO₂, Sigma]을 10 mg/L농도가 되도록 각각 처리하였다. 건조 분쇄된

상추시료 내 게르마늄 함량은 유기게르마늄 상추시료는 60 mg/kg, 무기게르마늄 상추시료는 60 mg/kg 이었다.

실험 시료 및 실험군

유기 게르마늄을 함유하지 않은 상추와 유기 게르마늄을 함유한 상추의 분말을 식약청 고시에 명시된 최고농도인 2,000 mg/kg을 투여량으로 산출하였고, 이 때 실험 시료에 포함된 게르마늄의 함유량은 60 mg/kg이었다. 상추 내 게르마늄 분석은 건조시료 0.2g을 teflon bomb에 넣은 후 분해용액으로 HNO₃ (Merk, Suprapur) 5 ml을 첨가하여 4시간 방치한 후 50°C로 over night시키고 H₂O₂ 0.5ml (Merk, Suprapur)을 첨가하여 80°C로 2시간 가열하여 유기물을 완전히 분해시켜 3차 증류수를 가하여 50 ml로 정용하여 ICP-MS (Agilent 7500 Series ICP-MS, Agilent Technologies, USA) 또는 ICP (ICPE 9000, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분석하였다. 실험군의 구성은 암수 각각 40마리의 생쥐를 실험군간 체중이 고르게 나누어서 증류수를 경구 투여한 대조군, 게르마늄을 함유하지 않은 상추를 경구 투여한 실험군, GeO₂를 함유한 상추를 경구 투여한 실험군, Ge₁₃₂를 함유한 상추를 경구 투여한 실험군으로 나누고 실험군 당 암수 5마리씩 배치하였다.

실험동물 및 사육조건

실험동물은 (주)샘타코 바이오 코리아(경기도 오산시, 한국)에서 특정병원체부재(specific pathogen free) C57BL/6 생쥐를 공급받아 실험동물 사육실에서 폴리카보네이트 사육상자(260×410×20 mm)당 5개체의 밀도를 유지하며 사육하였고 사육상자는 시험번호 및 동물번호를 기입한 라벨지를 부착하여 식별하였다. 이들 생쥐는 2주일간 온도 21±2°C, 습도 55±10%의 환경에서 사육하였으며 사료는 (주)샘타코 바이오 코리아에서 공급받은 방사선 조사로 멸균된 실험동물용 고품 사료를, 물은 여과된 멸균 정제수를 충분히 공급하고, 낮과 밤의 주기를 12시간씩 조절하면서 가능한 스트레스를 받지 않도록 사육하였으며, 생후 8주의 생쥐를 실험에 사용하였다.

일반 및 임상증상 관찰

실험 기간 중 투여 당일은 8시간까지 매시간, 투여 다음날부터 14일까지 매일 1회씩 동물의 행동, 운동성, 보행 이상 외관 등에 관한 일반증상과 임상증상 및 사망 유무에 관해서 관찰하였다.

체중 변화

모든 동물에 대하여 투여 개시 전에 1회, 투여 개시 후에 이들에 한 번씩 2, 4, 6, 8, 10, 12, 및 14일에 몸무게를 측정하였으며, 총 8회 체중을 측정하였다.

사료 및 물 섭취량

사료와 물 섭취량은 실험기간 동안 2일에 1회씩 측정했으

며, 사료는 공급 전 무게와 공급 후 무게의 차이, 물은 공급 전 부피와 공급 후 부피의 차이를 측정하였다.

장기무게 측정

실험 종료 후 실험동물을 에테르로 마취하여 희생시키고 육안적으로 피하, 복강장기, 흉강장기 및 뇌를 관찰하였다. 무게를 측정한 장기는 뇌, 흉선, 심장, 폐, 간, 비장, 신장-좌우, 부신-좌우, 난소-좌우(암컷), 고환-좌우(수컷), 부고환-좌우(수컷), 자궁(암컷), 전립선(수컷)이며, 무게는 육안으로 지방을 제거한 다음 측정하였으며, 일부 크기가 작은 장기(부신, 난소, 부고환)는 해부현미경으로 관찰하면서 지방을 제거한 후 무게를 측정 하였다.

혈액학적 분석

부검 전 20~24시간 절식시킨 생쥐의 꼬리에서 채혈하여 얻은 혈액을 EDTA tube에 넣어 항응고 처리한 후 3시간 이내에 자동 혈액 측정기 HEMAVET 850(CDC Technical, USA)을 이용하여 아래의 항목을 측정하였다. 즉 혈액 중에 포함된 백혈구(White Blood Cell, WBC) 및 호중구(Neutrophil, NE), 림프구(Lymphocyte, LY), 단핵구(Monocyte, MO), 호산구(Eosinophil, EO), 호염구(Basophil, BA), 적혈구(Red Blood Cell, RBC)의 숫자와, 혈색소량(Hemoglobin, Hb), 적혈구 용적(Hematocrits, Hct), 평균적혈구용적(Mean Corpuscular Volume, MCV) 평균적혈구색소량(Mean Corpuscular Hemoglobin, MCH), 평균적혈구색소농도(Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration, MCHC), 혈소판(Platelet, PLT), 평균적혈구색소량(Mean Plasma Volume, MPV)의 값을 측정하였다.

혈액 생화학 분석

부검전일 20~24시간 절식시킨 생쥐의 안와에서 채혈한 혈액을 Heparin tube에 담아 원심분리(1,914g, 5분)하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 자동생화학분석기(FUJI DRI-CHEM 3500, Japan)를 이용하여 GOT(Glutamate Oxaloacetate Transaminase), GPT(Glutamic Pyruvic Transaminase), BUN(Blood Urea Nitrogen), CRE(Creatinine), TP(Total protein), GLU(Glucose), ALB(Albumin), ALP(Alkaline Phosphatase) GGP(γ -Grutamyltransferase), TG(Triglyceride), T-Chol(Total Cholesterol), IP(Inorganic Phosphorus), LDH(Lactate Dehydrogenase), CKMB(Creatine kinase), Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^- 값을 분석하였다.

비장세포 증식반응 측정

유기 게르마늄 투여가 면역세포의 증식반응에 미치는 효과를 측정하기 위하여 생쥐의 비장세포를 이용하였다. 먼저 각 실험군의 생쥐 비장을 분리한 다음, 핀셋이나 메쉬를 이용하여 단일세포 부유액을 만들었다. 단일세포 부유액을 RPMI

1640 배양액으로 3회 세척한 다음, 5×10^6 cell/ml 농도가 되게 희석한 후 96 well당 100 μ l 씩 첨가하였다. 이때, LPS (10 μ g/ml) 또는 Con A(1 μ g/ml)를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 배양하였다. 비장세포증식 측정은 Promega(Madison, WI, USA)제품인 Cell Titer 96^R Aqueous One Solution Cell proliferation Assay를 사용하였다. 즉 세포 배양액 100 μ l에 Cell Titer 96^R Aqueous One Solution Cell proliferation Assay 시약을 15 μ l 씩 첨가하여 3시간동안 반응시킨 다음 Microplate reader(Titertek Multiscan Plus, Finland)로 490 nm에서 O.D.값을 측정하여 증식 정도를 측정하였다.

세포 표면분자 분석

비장 내 림프구인 B세포, 보조 T세포, 세포독성 T세포의 비율을 측정하기 위하여, 생쥐의 비장세포(5×10^5 개)를 anti-CD16/CD32(Fc γ III/II Receptor) mAb로 4 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 blocking하고 washing 용액(1% FBS/0.1% NaN₃/PBS)으로 세척하였다. 그리고 PE-conjugated anti-CD8 mAb 또는 FITC-conjugated anti-CD4, CD-19 mAb로 4 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 염색하였다. 염색한 세포를 다시 washing 용액으로 세척한 후, 인산완충용액에 현탁하여 유세포분석기(Epics XL, Coulter, USA)로 분석하였다.

통계처리

대조군과 실험군 간의 체중변화, 사료와 물 섭취량, 혈액 검사, 혈액검사, 혈액생화학검사에 대한 실험결과는 Mean \pm S.D.로 나타내었으며 대조군과 유의한 차이가 있는 실험군을 알아보기 위하여 Student *t*-test를 실시하였으며 유의차가 5% 미만($p < 0.05$)일 때 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

일반 및 임상증상 관찰

실험 전 기간 동안 사망한 실험동물은 없었으며, 시료의 투여와 관련된 일반증상과 임상증상도 관찰되지 않았고, 부검 결과에서도 시료 투여와 관련한 어떠한 육안적 병변도 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 합성 유기게르마늄을 이용한 rat(0.31 - 5 g/kg)와 생쥐(1.25 - 5 g/kg, 게르마늄 함량 43.4%)에 대한 급성 경구독성시험 결과³⁰⁾와, rat(2 g/kg)와 비글견(1 g/kg)에서 단회투여 독성연구 결과³¹⁾에서 나타난 것과 동일하였다.

체중 변화

실험 전 기간 동안 대조군과 시료 투여군 간의 체중 차이는 관찰되지 않았다(Table 1). 시험 시작 전에 측정된 체중은 암컷이 약 17~18 g으로 약 20 g인 수컷에 비해 적은 것으로 나타났으며 14일 간의 실험기간 동안에 유의한 체중 변화

는 암컷과 수컷 모두에서 관찰되지 않았다. 그러나 실험 마지막에 측정된 체중은 암컷과 수컷, 그리고 대조군과 실험군 모두에서 약간씩 감소하는 것으로 나타났지만, 이것은 생쥐를 희생시키기 전에 24시간 절식시킨 것 때문이라고 생각된다.

효모 유기게르마늄을 이용한 실험에서 관찰 14일째 수컷 rat의 경우에 대조군에 비해 실험군의 체중이 감소하는 것이 유의하게 관찰되었지만 암컷의 경우에는 관찰되지 않았다는 보고³²⁾와 동일한 시료를 개에 투여하였을 때는 암수 모두에서 유의한 체중변화는 관찰되지 않는 보고³³⁾도 있었다.

사료 섭취량 및 물 섭취량 변화

사료 섭취량은 생쥐 한 마리 당 섭취량은 측정하지 않고 5마리가 들어있는 사육상자 당 사료 섭취량을 측정하였다. 사료 섭취량도 실험기간 동안 큰 변화가 없는 것으로 나타났으며, 암컷 생쥐의 사료 소비량은 2일 동안 약 24~32 g으로 약 27~36 g인 수컷에 비해 적은 것으로 나타났다(Table 2). 이것은 암수의 체중 차이로 인한 사료 섭취량의 차이로 생각된다. 물 섭취량 역시 사료 섭취량과 같이 생쥐 한 마리 당 섭취량은 측정하지 않고 5마리가 들어있는 사육상자 당 사료

Table 1. Changes in mean body weight(g) of female and male mice

Groups	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂	
F e m a l e	0day	18.070±0.865	17.880±0.970	18.348±0.302	18.110±0.931
	2day	18.634±1.207	18.078±0.523	18.721±0.572	18.516±1.009
	4day	18.603±1.363	18.080±0.751	18.603±0.456	18.584±1.088
	6day	18.835±1.445	18.140±0.756	18.596±0.339	18.655±0.902
	8day	18.407±1.182	17.662±0.800	18.465±0.576	18.504±0.888
	10day	18.129±0.981	17.556±0.821	18.290±0.540	18.453±0.878
	12day	18.336±1.147	17.648±0.702	18.513±0.514	18.596±0.749
	14day	16.854±1.176	16.017±0.945	17.087±0.471	17.250±0.781
M a l e	0day	20.832±0.466	20.686±0.818	20.562±0.386	20.566±0.959
	2day	20.819±0.512	20.458±0.816	20.728±0.536	20.081±0.896
	4day	21.441±0.561	20.791±0.718	20.572±0.356	20.839±0.685
	6day	21.418±0.518	21.145±0.886	20.881±0.319	20.920±0.814
	8day	21.722±0.745	21.122±0.837	20.898±0.491	20.651±0.927
	10day	21.710±0.648	21.350±0.948	21.147±0.562	20.786±0.978
	12day	22.115±0.590	21.679±0.882	21.201±0.249	21.301±1.050
	14day	20.310±0.596	19.997±0.711	19.321±0.389	19.858±1.101

Changes in mean body weights of female and male mice following single administration on Day 0 with 2,000 mg/kg of lettuce, lettuce-GeO₂, or lettuce-Ge₁₃₂ of organic-germanium lettuce powder, or its vehicle.

Table 2. Feed consumption by female and male mice(g)

Groups	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂	
F e m a l e	2day	31.351	24.917	32.071	28.799
	4day	28.645	26.450	29.835	29.348
	6day	29.218	26.965	28.92	28.726
	8day	25.622	24.587	25.2	25.251
	10day	24.785	24.604	25.702	25.983
	12day	30.519	27.199	27.044	28.123
M a l e	2day	31.003	27.499	30.594	33.382
	4day	33.124	28.293	30.323	35.199
	6day	31.469	29.287	30.323	30.849
	8day	36.568	30.584	29.106	31.469
	10day	33.088	28.710	28.838	33.631
	12day	33.974	31.992	29.715	36.173

Feed consumption by female and male mice following single administration on Day 0 with 2,000 mg/kg of lettuce, lettuce-GeO₂, or lettuce-Ge₁₃₂ of organic-germanium lettuce powder, or its vehicle.

섭취량을 측정하였다. 물 섭취량도 실험 기간 동안 큰 변화가 없는 것으로 나타났으며, 암컷 생쥐의 물 소비량은 2일 동안 약 38~45 ml로 약 38~49 ml인 수컷에 비해 약간 적은 것으로 나타났다(Table 3). 그러나 수컷 생쥐에서 Ge₁₃₂를 함유한 상추를 먹인 실험군의 실험 4일째 물 섭취량이 64 ml로 측정이 되었다. 이것은 암수의 평균적인 물 섭취량에 비해 증가한 것으로, 같은 실험군의 2, 6, 8, 10, 12일째 물 섭취량(46~51 ml)을 고려할 때, 갑자기 물 섭취량이 증가하였다고 생각하기보다 물병이 새거나 측정 상의 오차로 이해하는 것

이 타당하다고 생각된다.

장기 무게 변화

각 실험군의 절대 장기 무게를 측정한 결과, 암수 각 실험군에서 대조군에 비해 실험군의 장기 무게는 큰 변화가 없는 것으로 나타났다(Table 4). 즉 암컷의 경우에 대조군에 비해 각 실험군의 장기 무게가 모두 약간 감소하는 경우(흉선, 오른쪽 난소)와 약간 증가하는 경우(왼쪽 난소)가 있었지만 유의한 차이는 아닌 것으로 나타났으며, 나머지 장기에서는 대

Table 3. Water consumption(ml) by female and male mice

Groups		DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂
Female	2day	42.5	40	41	43
	4day	40	38	41	43
	6day	46	40	42.5	44
	8day	45	44	41	44
	10day	40	40	40.5	44
	12day	42.5	39	40	43
Male	2day	49	41.5	42	51
	4day	47	36	44	64
	6day	49	41	44	46
	8day	54	43	44	50
	10day	45.5	40	38.5	46
	12day	49	46	38	48.5

Water consumption by female and male mice following single administration on Day 0 with 2,000 mg/kg of lettuce, lettuce-GeO₂, or lettuce-Ge₁₃₂ of organic-germanium lettuce powder, or its vehicle.

Table 4. Absolute organ weights of mice(n=5) orally administered with organic-germanium lettuce powder or its vehicle

Sex	Groups	Male				Female			
		DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂
	Brain(g)	0.4391±0.0136	0.4383±0.0114	0.4273±0.0110	0.4424±0.0094	0.4437±0.0252	0.4523±0.0501	0.4388±0.0116	0.4485±0.0238
	Thymus(g)	0.0409±0.0074	0.0379±0.0035	0.0378±0.0057	0.0403±0.0127	0.0486±0.0062	0.0473±0.0064	0.0480±0.0039	0.0467±0.0058
	Heart(g)	0.1137±0.0079	0.1100±0.0112	0.1011±0.0094	0.1039±0.0086	0.0993±0.0168	0.0897±0.0055	0.1026±0.0087	0.0981±0.0075
	Lung(g)	0.1098±0.0034	0.1080±0.0021	0.1135±0.0061	0.1180±0.0066	0.1074±0.0071	0.1149±0.0059	0.1024±0.0049	0.1086±0.0059
	Liver(g)	0.8036±0.0471	0.8096±0.0667	0.7957±0.0283	0.7702±0.0620	0.7137±0.0682	0.6860±0.0358	0.7096±0.0497	0.7306±0.0312
	Spleen(g)	0.0448±0.0045	0.0438±0.0066	0.0432±0.0031	0.0450±0.0045	0.0491±0.0029	0.0461±0.0027	0.0447±0.0025	0.0502±0.0017
Kidneys	left	0.1265±0.0062	0.1319±0.0061	0.1327±0.0094	0.1313±0.0181	0.1022±0.0107	0.0984±0.0038	0.1036±0.0082	0.1042±0.0121
	right	0.1369±0.0044	0.1278±0.0127	0.1349±0.0107	0.1358±0.0077	0.1063±0.0121	0.1024±0.0033	0.1092±0.0068	0.1118±0.0092
Adrenals	left	0.0025±0.0002	0.0020±0.0003	0.0033±0.0023	0.0024±0.0009	0.0029±0.0004	0.0029±0.0004	0.0028±0.0007	0.0032±0.0005
	right	0.0020±0.0007	0.0019±0.0001	0.0046±0.0069	0.0023±0.0005	0.0024±0.0003	0.0028±0.0003	0.0019±0.0005	0.0028±0.0003
Testes	left	0.0694±0.0099	0.0829±0.0056	0.0805±0.0070	0.0741±0.0030	-	-	-	-
	right	0.0697±0.0100	0.0806±0.0029	0.0839±0.0022	0.0766±0.0044	-	-	-	-
Epididymides	left	0.0328±0.0125	0.0262±0.0040	0.0313±0.0079	0.0250±0.0025	-	-	-	-
	right	0.0257±0.0032	0.0279±0.0048	0.0311±0.0067	0.0246±0.0026	-	-	-	-
	Prostate(g)	0.0180±0.0030	0.0179±0.0015	0.0245±0.0038	0.0187±0.0056	-	-	-	-
Ovaries(g)	left	-	-	-	-	0.0011±0.0005	0.0015±0.0007	0.0011±0.0004	0.0023±0.0007
	right	-	-	-	-	0.0023±0.0010	0.0015±0.0007	0.0021±0.0007	0.0023±0.0005
	Uterus(g)	-	-	-	-	0.0462±0.0118	0.0609±0.0227	0.0448±0.0128	0.0580±0.0218

Values are presented as means ± S.D. for 5 mice

조군에 비해 각 실험군이 증가하는 경우와 감소하는 경우 두 가지 경우가 나타났지만 이것 역시 유의한 차이는 아니었다. 수컷의 경우에도 흉선, 심장, 오른쪽 신장, 왼쪽 부고환의 무게가 대조군에 비해 모든 실험군에서 약간 감소하였지만 유의한 차이는 아니었고, 왼쪽 신장과 좌우의 부고환의 무게가 약간 증가하였지만 역시 유의한 차이는 아니었다. 이러한 결과는 효모 유기게르마늄을 13주간 투여한 rat(0.5, 1, 2g/kg)의 결과와 일치하였지만³²⁾, 개(1 g/kg)에 투여한 경우에는 좌, 우 부신의 무게가 유의하게 증가하는 보고³³⁾도 있었다.

몸무게에 대한 상대적인 장기 무게를 비교한 결과, 대조군과 비해 실험군 간에 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table 5). 그러나 암수 간의 몸무게에 대한 장기 무게를 비교해보면 뇌, 흉선, 심장, 허파, 간, 비장 등의 상대적 무게가 수컷에 비해 암컷이 무거운 것으로 나타났다. 이것은 같은 장기 무게의 경우에 상대적으로 암컷의 체중이 적기 때문에 생기는 결과라고 생각할 수도 있다. 그러나 왼쪽 신장의 경우에는 암컷에 비해 수컷이 무거운 것으로 나타났으며, 흉선과 같이 절대적으로 암컷의 장기가 무거운 것도 있기 때문에 암수 체중에 의한 것으로 생각할 수 없다. 다만 암수 간의 몸무게에 대한 상대적인 무게의 차이가 모두 정상적인 범위 내에 속하였기 때문에 시료 투여로 인한 결과는 아닌 것으로 판단된다. 상대적인 장기의 무게 변화는 효모 유기게르마늄을 13주간 투여한 경우에 rat(2 g/kg)의 심장 무게가 암수 모두에서 유의하게 증가하는 경우³²⁾가 있었고, 개(2 g/kg)의 뇌하수체 무게가 암컷에서 유의하게 증가하는 경우가 보고³³⁾되었지만 본

실험에서는 분리하지 못해 비교하지 못하였다.

혈액 생화학적 분석

혈액 생화학적 검사 결과에서 암컷의 경우에는 대조군에 비해 각 실험군의 측정값에 유의한 변화는 없는 것으로 나타났다(Table 6). 그러나 수컷의 경우에는 GPT와 GOT 측정값이 대조군에 비해 Ge₁₃₂를 함유한 상추를 먹인 실험군에서 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 그러나 효모 유기게르마늄을 장기간 투여한 rat와 개에서는 GPT와 GOT값의 변화는 관찰되지 않는 것으로 나타났다^{32,33)}. 그리고 LDH 측정값이 대조군에 비해 GeO₂와 Ge₁₃₂를 함유한 상추를 먹인 실험군에서 각각 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 이러한 LDH 값의 유의한 감소는 효모 유기게르마늄을 장기간 투여한 개에서 수컷(0.5, 1, 2 g/kg)과 암컷(1 g/kg)에서 동일하게 관찰되었다³³⁾. 그러나 본 실험에서의 이러한 변화는 모두 정상범위 내에서 변화였으며 시험물질 투여로 인한 결과는 아닌 것으로 생각된다.

혈액학적 분석

혈액학적 검사에서는 암컷과 수컷 모두에서 대조군에 비해 각 실험군의 측정값에 유의한 변화는 없는 것으로 나타났다(Table 7). 수컷의 혈소판(PLT) 수치가 대조군에 비해 각 실험군이 증가한 것으로 나타났지만 유의적인 변화는 아니었다. 이러한 결과는 효모 유기게르마늄을 장기간 투여한 개에서 나타난 결과와 동일하였다³³⁾.

Table 5. Relative organ weights of mice(n=5) orally administered with organic-germanium lettuce powder or its vehicle

Sex	Male				Female				
	Groups	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂
	Brain(g)	2.164±0.098	2.194±0.090	2.213±0.093	2.232±0.099	2.640±0.191	2.822±0.224	2.568±0.038	2.605±0.201
	Thymus(g)	0.201±0.037	0.189±0.011	0.196±0.030	0.202±0.061	0.289±0.038	0.295±0.027	0.281±0.024	0.271±0.033
	Heart(g)	0.561±0.053	0.550±0.048	0.523±0.048	0.523±0.030	0.587±0.067	0.560±0.021	0.601±0.058	0.568±0.020
	Lung(g)	0.541±0.022	0.541±0.018	0.587±0.032	0.595±0.030	0.638±0.025	0.719±0.051	0.600±0.031	0.630±0.024
	Liver(g)	3.955±0.177	4.044±0.207	4.119±0.148	3.874±0.102	4.235±0.280	4.286±0.124	4.153±0.227	4.238±0.141
	Spleen(g)	0.221±0.026	0.219±0.027	0.224±0.013	0.227±0.023	0.293±0.028	0.288±0.012	0.262±0.016	0.292±0.019
Kidneys	left	0.623±0.029	0.661±0.044	0.686±0.045	0.660±0.070	0.606±0.022	0.616±0.034	0.607±0.051	0.605±0.069
	right	0.675±0.034	0.639±0.060	0.698±0.052	0.684±0.019	0.629±0.031	0.643±0.058	0.639±0.046	0.647±0.031
Adrenals	left	0.012±0.001	0.010±0.001	0.017±0.012	0.014±0.005	0.017±0.002	0.018±0.003	0.016±0.004	0.018±0.003
	right	0.010±0.003	0.009±0.001	0.024±0.037	0.012±0.005	0.014±0.002	0.018±0.002	0.011±0.003	0.016±0.002
Testes(g)	left	0.342±0.052	0.414±0.020	0.416±0.030	0.375±0.035	-	-	-	-
	right	0.344±0.053	0.403±0.013	0.434±0.011	0.387±0.040	-	-	-	-
Epididymides	left	0.162±0.063	0.131±0.019	0.162±0.041	0.127±0.017	-	-	-	-
	right	0.126±0.013	0.140±0.028	0.161±0.032	0.124±0.015	-	-	-	-
	Prostate(g)	0.089±0.015	0.090±0.009	0.127±0.021	0.094±0.027	-	-	-	-
Ovaries(g)	left	-	-	-	-	0.006±0.002	0.009±0.004	0.006±0.002	0.013±0.004
	right	-	-	-	-	0.013±0.005	0.009±0.005	0.012±0.004	0.013±0.003
	Uterus(g)	-	-	-	-	0.277±0.079	0.380±0.140	0.263±0.079	0.335±0.120

Values are presented as means ± S.D. for 5 mice

Table 6. Blood biochemistry of mice(n=5) orally administered with organic-germanium lettuce powder or its vehicle

Sex	Male				Female				
	Groups	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂
	GPT(U/l)	64.6±29.4	70.4±21.6	35.6±2.3	29.6±3.0*	41.2±9.8	42.6±6.0	78.6±54.5	57.2±11.4
	GOT(U/l)	192.6±60.0	203±63.2	117.8±35.7	91.8±8.8*	126.6±42.1	136.2±36.0	280.4±175.0	177.8±39.7
	ALP(U/l)	251.8±38.6	257.6±28.0	267.2±20.2	305.8±40.4	323.4±25.5	342.4±33.9	250±54.7	302.2±36.8
	CKMB(U/l)	300.0±0.0	300.0±0.0	274.4±57.2	300.0±0.0	269.0±69.3	278.4±48.3	300.0±0.0	300.0±0.0
	GLU(mg/dl)	161.4±29.1	168±37.6	153.8±29.2	150.2±23.3	159.8±55.5	128.6±25.9	151±28.7	131±11.8
	BUN(mg/dl)	29.78±6.5	30.7±6.4	24.76±2.7	24.68±2.4	28.14±11.8	26.42±3.3	26.92±2.9	24.6±8.8
	CRE(mg/dl)	0.28±0.00	0.30±0.00	0.26±0.06	0.24±0.06	0.22±0.05	0.24±0.06	0.26±0.11	0.24±0.06
	TBIL(mg/dl)	0.46±0.18	0.48±0.13	0.28±0.05	0.26±0.06	0.26±0.06	0.30±0.00	0.74±0.48	0.44±0.09
	TCHO(mg/dl)	83.6±15.6	84.8±7.7	84.4±5.60	92.8±6.8	81.2±16.2	78.4±9.7	77±6.1	82.8±6.0
	TG(mg/dl)	63.8±10.2	59.2±15.4	66.6±13.7	52.2±6.4	59±13.0	73.6±9.7	82.4±12.8	81.2±7.8
	TP(g/dl)	4.62±0.40	4.52±0.36	4.72±0.13	4.84±0.09	4.68±0.19	4.54±0.25	6.12±2.73	4.72±0.16
	ALB(g/dl)	2.50±0.29	2.30±0.16	2.46±0.15	2.50±0.07	2.50±0.16	2.54±0.13	2.68±0.13	2.62±0.13
	GGT(U/l)	2.6±0.6	2.2±1.1	2.4±1.1	2.8±0.5	3.0±1.0	2.6±0.9	4.4±4.5	2.2±0.8
	LDH(U/l)	586.0±269.9	539.6±159.9	265.2±16.7*	246.2±36.3*	299.0±96.1	294.0±66.4	626.8±219.7	483.0±148.2
	IP(mg/dl)	9.84±1.10	8.88±0.67	7.88±1.34	7.54±0.65	7.62±0.82	6.62±1.60	10.10±2.94	6.54±3.07
	Ca(mg/dl)	9.98±0.29	9.22±1.13	9.60±0.14	9.78±0.11	9.46±0.30	9.56±0.45	9.42±0.48	9.42±0.37
	Na(mEq/l)	150.0±3.1	146.0±0.7	149.8±1.6	146.2±1.3	149.4±1.5	145.4±1.3	149.0±1.2	146.6±1.1
	K(mEq/l)	5.30±0.44	5.44±0.72	4.26±0.21	4.08±0.37	4.10±0.45	4.72±0.48	5.54±0.86	5.36±0.39
	Cl(mEq/l)	112.6±2.1	111.6±1.8	113.4±2.1	109±1.6	112.2±1.9	110.2±1.5	113.8±1.3	110.4±2.0

Values are presented as means ± S.D. for 5 mice

* Significant difference from male vehicle control group (P<0.05)

Table 7. Hematology of mice(n=5) orally administered with organic-germanium lettuce powder or its vehicle

Sex	Male				Female				
	Groups	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂	DW	Lettuce	Lettuce-GeO ₂	Lettuce-Ge ₁₃₂
	RBC(M/ μ l)	9.337±1.093	10.301±1.313	8.725±3.854	10.043±1.483	10.110±0.760	9.700±0.903	8.214±3.070	8.990±2.642
	Hb(g/dl)	13.780±1.786	14.290±1.059	12.500±3.375	15.460±0.470	13.760±0.688	14.120±1.375	11.080±4.600	13.320±4.282
	HCT(%)	39.460±4.684	43.570±5.326	40.230±11.801	41.940±6.338	43.520±3.176	41.440±4.110	39.560±13.936	38.920±10.833
RBC indices	MCV(fl)	42.260±0.350	42.320±0.957	42.610±1.574	39.150±8.608	43.080±1.033	42.720±0.798	49.000±3.062	43.460±0.789
	MCH(pg)	14.760±1.492	13.970±0.980	13.140±1.444	15.690±2.243	16.660±1.218	14.580±0.766	13.040±1.511	14.720±2.452
	MCHC(g/dl)	34.960±3.508	33.010±2.190	30.890±3.771	37.570±5.378	31.780±2.893	34.120±2.090	26.860±4.361	33.900±5.863
	PLT(K/ μ l)	1300.0±204.9	1436.1±121.7	1421.2±449.8	1778.0±220.1	923.4±398.6	829.6±181.7	969.0±233.1	749.0±290.9
	WBC(K/ μ l)	11.532±4.276	7.804±2.768	8.700±3.698	10.394±2.055	10.228±4.555	11.936±2.217	14.368±6.751	7.488±2.339
	NE(%)	15.076±3.532	16.042±4.494	12.338±3.681	12.179±2.728	16.192±3.909	15.832±4.512	11.526±4.750	13.114±2.848
WBC differential count(%)	LY(%)	81.591±3.833	79.755±6.318	82.328±4.290	84.251±3.152	77.756±6.055	80.564±5.222	81.578±7.266	81.518±4.576
	MO(%)	2.648±0.715	2.719±0.728	2.817±0.801	2.861±0.576	4.556±2.129	2.680±0.725	3.546±1.189	3.994±1.234
	EO(%)	0.519±0.561	1.108±1.459	1.119±1.514	0.553±0.532	1.270±0.615	0.704±0.479	2.404±1.460	1.002±1.613
	BA(%)	0.165±0.194	0.380±0.477	0.498±0.631	0.152±0.208	0.232±0.201	0.220±0.174	0.946±0.600	0.372±0.662

Values are presented as means ± S.D. for 5 mice

림프구 증식반응

시료 투여에 따른 림프구의 증식반응 변화를 관찰하기 위하여 대조군과 실험군의 생쥐에서 분리한 비장세포를 이용하였다. 비장세포 중에서 B세포를 특이적으로 자극하는 LPS와, T세포를 특이적으로 자극하는 Con A로 증식반응을 유도한 다음 흡광도로 증식반응을 측정하였다. 서로의 증식반응 정

도를 비교하기 위하여 LPS 또는 Con A를 첨가하였을 때 얻은 측정값을 무처리한 대조군의 측정값으로 나누어서 그 비율(stimulation index)을 비교하였다.

먼저 암컷의 경우에 LPS 자극에 대한 증식반응이 대조군 약 2.4~4.0인 것에 비해 실험군 약 2.1~4.1로 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 8). 그리고 Con A 자극에 대한

Table 8. The effects of LPS and Con A on the proliferation of female and male mice spleen cells

Groups		DW	LPS(10 μ g/ml)	Con A(1 μ g/ml)
F e m a l e	DW	1.0	3.145 \pm 0.598	2.693 \pm 0.326
	Lettuce	1.0	3.310 \pm 0.675	2.468 \pm 0.273
	Lettuce-GeO ₂	1.0	2.688 \pm 0.396	2.338 \pm 0.284
	Lettuce-Ge ₁₃₂	1.0	2.764 \pm 0.426	2.501 \pm 0.336
M a l e	DW	1.0	2.597 \pm 0.517	2.659 \pm 0.264
	Lettuce	1.0	2.392 \pm 0.633	2.428 \pm 0.257
	Lettuce-GeO ₂	1.0	2.874 \pm 0.391	2.964 \pm 0.245
	Lettuce-Ge ₁₃₂	1.0	2.081 \pm 0.231	2.345 \pm 0.111

The spleen cells(5 \times 10⁵ cells/well) of female and male mice following single administration on Day 0 with 2,000 mg/kg lettuce(2), lettuce-GeO₂(3), lettuce-Ge₁₃₂(4) of organic-germanium lettuce powder, or its vehicle(1) were stimulated LPS(10 μ g/ml) or Con A(1 μ g/ml) for 48 hours.

Table 9. Expression of various surface marker on the spleen cells

Groups	Male			Female		
	CD19(%)	CD4(%)	CD8(%)	CD19(%)	CD4(%)	CD8(%)
DW	51.0 \pm 2.1	23.9 \pm 1.1	14.7 \pm 2.0	49.9 \pm 1.6	25.7 \pm 0.7	14.5 \pm 1.2
Lettuce	50.7 \pm 4.0	25.1 \pm 1.7	15.8 \pm 1.8	54.3 \pm 3.8	23.2 \pm 1.4	13.2 \pm 1.0
Lettuce-GeO ₂	50.8 \pm 1.1	24.4 \pm 1.4	15.5 \pm 0.4	55.7 \pm 2.6	23.0 \pm 2.1	14.8 \pm 0.8
Lettuce-Ge ₁₃₂	51.7 \pm 1.8	23.3 \pm 2.0	14.2 \pm 1.3	50.9 \pm 2.6	23.3 \pm 1.1	14.8 \pm 1.6

Surface expression of CD19, CD4, CD8 of spleen cells were analyzed by one colour flow cytometry. Numbers represent the percentage of single positive cells.

증식반응도 대조군 약 2.2~3.0인 것에 비해 실험군 약 1.9~3.1로 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 수컷의 경우에도 LPS 자극에 대한 증식반응이 대조군 약 2.2~3.5인 것에 비해 실험군 약 1.7~3.5로 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 8). 그리고 Con A 자극에 대한 증식반응도 대조군 약 2.4~3.0인 것에 비해 실험군 약 1.7~3.3로 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 그리고 암컷과 수컷 사이의 유의한 변화도 없는 것으로 판단된다. 이러한 결과는 효모 유기게르마늄을 4주간 경구 투여한 실험에서도 LPS와 Con A에 대한 비장세포의 증식반응이 유의한 차이가 없다는 결과와 일치한다³⁴⁾.

B세포, 보조 T세포, 세포독성 T세포 비율

시료 투여에 따른 림프구의 비율 변화를 관찰하기 위하여 대조군과 실험군의 생쥐에서 분리한 비장세포를 이용하였다. 비장세포 중에서 B세포는 특이적 세포막 단백질인 CD19에 대한 항체를 이용하였고, T세포 중에서 보조 T세포는 특이적 세포막 단백질인 CD4에 대한 항체를 이용하였고, 세포독성 T세포는 특이적 세포막 단백질인 CD8에 대한 항체를 이용하여 그 비율을 측정하였다.

먼저 암컷의 경우에 B세포는 비장세포 중에서 그 비율이 대조군과 실험군에서 약 47.8~59.6%로 유의한 차이는 관찰

되지 않았다(Table 9). 그리고 보조 T세포의 비율도 평균적으로 약 23~25%, 세포독성 T세포의 비율도 평균적으로 약 13~14%로 각 실험군 간의 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 수컷의 경우에도 비장세포 중에서 B세포의 비율이 대조군과 실험군에서 평균적으로 약 50~51%로 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table 9). 그리고 보조 T세포의 비율도 평균적으로 약 23~25%, 세포독성 T세포의 비율도 평균적으로 약 14~15%로 각 실험군 간의 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 앞에서 관찰한 LPS와 Con A 자극에 대한 B세포와 T세포의 증식반응에서 각 실험군 간의 유의한 차이가 나타나지 않은 결과와 일치한다고 생각된다. 즉 LPS와 Con A 자극에 반응하는 세포 수에 차이가 없기 때문에 증식반응에도 유의한 차이가 없는 것으로 판단된다. 그러나 효모 유기게르마늄(0.1 g/kg)을 12일간 경구 투여한 실험에서 비장의 중량이 60% 이상 증가하여 그 결과 B세포 항체 생산 능력이 크게 향상되었다는 보고³⁵⁾가 있으며, 동일한 시료(0.1-0.8 g/kg)를 4주간 경구 투여한 실험에서도 비장 내 B세포 비율이 농도의존적으로 유의하게 증가하지만 T세포의 비율은 유의한 변화가 없다는 보고³⁴⁾도 있었다. 이러한 차이는 투여 기간의 차이라고 생각되며 장기독성시험 시 확인해 봐야할 것으로 생각된다.

이상의 결과로 GeO₂와 Ge₁₃₂를 함유한 상추 분말을 식약청 고시에 명시된 최고농도인 2,000 mg/kg을 단회 경구 투여하였을 때, 시료와 관련된 특기할만한 독성증상이 관찰되지 않는 것을 알 수 있었다.

요 약

유기게르마늄과 무기게르마늄을 첨가하여 양액 재배한 상추의 안전성을 평가하기 위하여 게르마늄 함유 상추의 생쥐(C57BL/6)에 대한 단회 경구 독성시험을 수행하였다. 실험 전 기간 동안 사망한 실험동물은 없었으며, 일반증상과 임상 증상도 관찰되지 않았고, 부검 결과 어떠한 육안적 병변도 관찰되지 않았다. 그리고 대조군과 시료 투여군 간의 체중 차이도 관찰되지 않았다. 암컷의 사료 소비량과 물 섭취량은 수컷에 비해 약간 적은 것으로 나타났다. 암컷의 경우에 대조군에 비해 각 실험군의 장기 무게가 모두 약간 감소하는 경우(흉선, 오른쪽 난소)와 약간 증가하는 경우(왼쪽 난소)가 있었고, 수컷의 경우에도 흉선, 심장, 오른쪽 신장, 왼쪽 부고환의 무게가 대조군에 비해 모든 실험군에서 약간 감소하였지만 유의한 차이는 아니었고, 왼쪽 신장과 좌우 고환의 무게가 약간 증가하였지만 역시 유의한 차이는 아니었다. 암수 간의 몸무게에 대한 상대적인 장기 무게의 차이는 모두 정상적인 범위에 속하였다. 혈액 생화학적 검사 결과, 수컷의 경우에는 GPT와 GOT 측정값이 대조군에 비해 Ge₁₃₂를 함유한 상추를 먹인 실험군에서 유의적으로 감소하였고, LDH 측정값이 대조군에 비해 실험군에서 각각 유의적으로 감소하였다. 혈액학적 검사에서는 수컷의 혈소판(PLT) 수치가 대조군에 비해 각 실험군이 증가한 것으로 나타났지만 유의적인 변화는 아니었다. LPS와 Con A 자극에 대해 비장세포의 증식반응과, 비장세포 내 B세포, 보조 T세포, 세포독성 T세포의 비율은 유의한 차이가 없었다. 이상의 실험 결과로 GeO₂와 Ge₁₃₂(60 mg/kg)를 함유한 상추 분말을 식약청 고시에 명시된 최고농도인 2,000 mg/kg을 단회 경구 투여하였을 때, 시료와 관련된 특기할만한 독성증상이 관찰되지 않았다.

감사의 글

본 연구는 2006년도 농림기술센터(ARPC)의 연구비 지원에 의하여 수행된 결과이며 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Jang, J. J., Cho, K. J., Lee, S. and Bae, J. H.(1991) Modifying responses of allyl sulfide, indole-3-carbinol and germanium in a rat multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis* 12(4), 691-695.
 2. Mochizuki, H. and Kada, T. (1982) Antimutagenic effect of Ge-132 on γ -ray-induced mutation in

Escherchia coli B/rWP2 trp-. *Int. J. Radiat. Biol.* 42(6), 653-659.
 3. Suzuki, F., Brutkiewicz, R. R. and Pollard, R. B. (1986) Cooperation of lymphokine (s) and macrophages in expression of antitumor activity of carboxyethylgermanium (Ge-132). *Antitumor Res.* 62(2), 177-182.
 4. Aso, H., Suzuki, F., Yamaguchi, T., Hayashi, Y., Ebina, T. and Ishida, N. (1985) Induction of interferone and activation of NK cells and macrophages in mice by oral administration of Ge-12, and organic germanium compound. *Microbiol. Immunol.* 29(1), 65-74.
 5. Dimartion, M. J. (1986) Antiarthritic and immunoregulatory activity of spirogermaium. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 236(1), 103-110.
 6. Sasaki, K., Ishikawa, M., Monma, K. and takayanagi, G. (1984) Effect of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) on the acute inflammation and CCl₄ induced hepatic damage in mice. *pharmacometrics* 27(6), 1119-1131.
 7. Lee, H. M. and Chung, Y. (1991) Effect of organic germanium on metallothionein inductin in liver and kindey of cadmium and mercury intoxicated rats. *Yakhak Hoeji* 35(2), 99-110.
 8. Ho, C. C., Cherm, Y. F. and lin, M. T. (1990) Effects of organogermanium compound 2-carboxyethylgermanium sesquioxide on cardiovascular function motor actibity in rats. *Pharmacology* 41, 286-291.
 9. Kehlbeck, H. (1983) New germanium containing yeast for medicinal and veterinary use. *Deutsch patent DE.* 3345211.
 10. Nobohiro, W., Osaumu, I., Dakuro, K. and Koichi, Y. (1980) New approaches to using spent brewer's yeast. *ASBC J.* 38, 5.
 11. Wei, X. S. (1992) Effect of yeast on bioenrichment of germanium. *Food Sci.* 149, 49-54.
 12. Lee, S. T., Lee, Y. H., Choi, Y. J., Lee, S. D., Lee, C. H. and Heo, J. s. (2005) Growth characteristics and germanium absorption of rice plant with different germanium concentration in soil. *Korean J. Environ. Agric.* 24(1), 40-44.
 13. Lee, S. T., Lee, Y. H., Bhan, K. N., Seo, D. C. and Heo, J. S. (2005) Growth characteristics and germanium absorption in Lettuce with differnt concentrations of germanium in soil. *Korean J. Environ. Agric.* 24(4), 404-408.
 14. Lee, G. P., Park, H. S., Won, J. H. and Park, K.

- W. (2005) Effect of GeO_2 concentration on hydroponically-grown lettuce (*Lactuca sativa*). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 46(2), 113-118.
15. Han, S. S., Rim, Y. S. and Jeong, J. H. (1996) Growth characteristics and germanium absorption of soybean sprout cultured with aqueous solution of organogermanium. *Agric. Chem. Biotech.* 39(1), 39-43.
 16. Chang, E. J. and Oh, H. I. (2005) Effects of addition of inorganic germanium, GeO_2 on the Growth, germanium and saponin contents of ginseng adventitious root in submerged culture. *J. Ginseng Res.* 29(3), 145-151.
 17. Obara, K., Saito, T., Sato, H., Yamakage, K., Watanabe, T., Kakizawa, M., Tsukamoto, T., Kobayashi, K., Hongo, M. and Yoshinaga, K. (1991) Germanium poisoning; clinical symptoms and renal damage caused by long-term intake of germanium. *Japanese J. Medicine* 30(1), 67-72.
 18. Iijima, M., Mugishima, M., Takeuchi, M., Uchiyama, S., Kobayashi, I. and Maruyama, S. (1990) A case of inorganic germanium poisoning with peripheral and cranial nephropathy. *myopathy and autonomic dysfunction* 42(9), 851-856.
 19. Sanai, T., Oochi, S., Osato, S., Kiyama, S., Komota, T., Onoyama, K., (1990) Subacute nephrotoxicity of germanium dioxide in the experimental animal. *Toxicol Appl Pharmacol.* 103(2):345-53.
 20. Sanai, T., Onoyama, K., Osato, S., Motomura, K., Oochi, N., Oh, Y., Okuda, S., Takaichi, S., Fujishima, M., (1991) Dose dependency of germanium-dioxide-induced nephrotoxicity in rats. *Nephron.* 57(3):349-54.
 21. Higuchi, I., Takahashi, K., Nakahara, K., Izumo, S., Nakagawa, M., Osame, M., (1991) Experimental germanium myopathy. *Acta Neuropathol.* 82(1):55-9.
 22. Matsumuro, K., Izumo, S., Higuchi, I., Ronquillo, A.T., takahashi, K., Osame, M., (1993) Experimental germanium-dioxide-induced nephropathy in rats. *Acta Neuropathol.* 86(6):547-53.
 23. Schauss, A.G., (1991) Nephrotoxicity in humans by the ultratrace element germanium. *Ren Fail.* 13(1):1-4.
 24. Nagata, N., Yoneyama, T., Yanagida, K., Ushio, K., Yanagihara, S., Matsubara, O., Eishi, T., (1985) Accumulation of germanium in the Tissues of a long-term user of germanium preparation died of acute renal failure. *J Toxicol Sci.* 10(4):333-41.
 25. Sugiyama, Y., Sakamaki, S. and Satoh, H., (1986) Reversibility study in rats after two month's oral administration of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) *Pharmacometrics.* 31(6), 1191-1200.
 26. Sugiyama, Y., Sakamaki, S., Sugita, T., Abo, Y., and Satoh, H., (1986) Subacute oral toxicity of carboxyethylgermanium sesquioxide(Ge-132) in rats 31(6), *Pharmacometrics.* 1181-1190.
 27. Sugiyama, Y., Yoshida, K., Sakamaki, S., Eda, K., and Satoh, H., (1986) Reproductive and teratogenic studies of carboxyethylgermanium sesquioxide(Ge-132) (2) Teratogenesis study in rats by intravenous administration. *Pharmacometrics.* 32(1), 123-138.
 28. Nagai, H., Hasegawa, K., and Shimpo, K., (1980) Reproductive study of rats intraperitoneally treated with carboxyethylgermanium sesquioxide(Ge-132). *Pharmacometrics.* 20(2), 271-280.
 29. Nagata, T., Aramaki, Y., Enomoto, M., Isaka, H., and Otuka, J., (1978) Chronic intravenously toxicity study with carboxyethylgermanium sesquioxide in beagle-dog. *Pharmacometrics.* 16, 671-682.
 30. Seo, K. W., Lee, K. M., Oh, M. H. and Kim, H. J., (1997) Acute toxicity of Organogermanium, Ge-132 in Rats and Mice. *J. Food Hyg. Safety.* 12(4): 271-276.
 31. Song, S. W., Jung, W. and Hong, D. H., (2006) Single Dose Toxicity Studies of STB-HO-BM in Rats and Dogs. *J. Toxicol. Pub. Health.* 153-156
 32. Lee, J. S., Park, J. I., Kim, S. H., Park, S. H., Kang, S. K., Park, C. B., Sohn, T. U., Jang, J. Y., Kang, J. K and Kim, Y. B., (2004) Oral single- and repeated-dose toxicity studies on GERANTI BIO-GE YEAST[®], organic germanium fortified yeast, in rats. *The Journal of Toxicological Sciences.* 541-553.
 33. Lee, J. S., Park, J. I., Kim, S. H., Lee, H. Y., Hwang, Z. Z., Park, C. B., Sohn, T. U., Shin, S. H., Kang, J. K and Kim, Y. B. (2004) Oral single- and repeated-dose toxicity studies on GERANTI BIO-GE YEAST[®], organic germanium fortified yeast, in dogs. *The Journal of Toxicological Sciences.* 555-569.
 34. Joo, S. S., Won, T. J., Lee, Y. J., Kim, M. J., Park, S. Y., Lee, S. H., Hwang, K. W. and Lee, D. I. (2006) Effect of Geranti Bio-Ge Yeast, a dried yeast containing biogermanium, on the production of antibodies by B cells. *Immune Network.* 6(2), 86-92.
 35. 백대현, 정진욱, 손창욱, 강종구. (2007) 케르마늄 강화효모의 마우스에서의 암세포 억제 및 대식세포, NK 세포, B 세포의 활성화에 관한 연구. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 35(2), 118-127.