한국식생활문화학회지 24(2): 236-243, 2009
KOREAN J. FOOD CULTURE 24(2): 236-243, 2009

알루미늄을 투여한 노령 흰쥐에 있어서 뇌조직의 인지질 구성과 신경전달 물질 농도에 미치는 영향

한성희[1]* · 최덕호[2]
[1]원광보건대학 식품영양과, [2]원광대학교 약학대학

Effects of Aluminum Feedings on Aluminum, Phospholipid and Catecholamine Concentrations in Old Rat Brain Tissue

Sung-Hee Han[1]*, Deck-Ho Choi[2]
[1]*Department of Food of Nutrition, Wonkwang Health Science College*
[2]*College of Pharmacy, Wonkwang University*

Abstract

This study was performed to investigate the effects of aluminum sulfate administration on the brain tissues of old rats, when given at different concentrations. The experiment attempted to further ascertain whether aluminum exposure cause Alzheimer's disease. Seventy-five aged Sprague-Dawley rats were divided into five groups; a control group, 2 ppm aluminum sulfate group, 20 ppm aluminum sulfate group, 40 ppm aluminum sulfate group, and 200 ppm aluminum sulfate group, and were kept on the respective diets for 12 weeks. In order to understand the influence of aluminum on the brain, serum aluminum concentrations, phospholipid composition, and catecholamine concentrations were compared between the aluminum-treated groups and the normal group. According to the results, serum aluminum was higher in the aluminum sulfate-treated groups than in the normal group. Within the cortex, catecholamine concentrationes were significantly increased but cerebellum and brainstem tissue were significantly decreased, in the aluminum sulfate-treated groups compared to the normal group. For phospholipid composition, phosphatidyl inositol was significantly increased wherase phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine, and phosphatidyl serine were significantly decreased in the aluminum sulfate-treated groups versus the normal group. Based on the data, increased aluminum consumption in experimental animals causes increased serum aluminum levels and catecholamine variation. These phenomena are very similar to conditions of Alzherimer's disease. Therfore, the results of this experiment further suggest that aluminum cause Alzherimer's disease, coinciding with reports that aluminum is a cause of neurofibrilly tangles in the brain.

Key Words: phospholpid, catecholamine, ALT, AST, ALP, ChEase, Aluminum

I. 서 론

우리나라는 저출산 및 고령화시대의 사회 과제를 안고 있으며 인구 구조상 변동 추이를 보면 1970년대 부터 현재에 이르기까지 0-14세 저연령 인구는 지속적으로 감소하는 반면 65세 이상 고령 인구는 증가하는 추세로 2030년경에 0-14세 인구는 11.4%, 65세 이상 인구는 24.3%로 추정되며 2050년이 되면 0-14세 인구가 불과 8.9%인데 반해 65세 이상 인구는 전체 인구의 38.2%를 차지할 것으로 전망하고 있다(Korean national statistical office 2006).

따라서 노년 인구 증가에 따른 신체 기능 저하와 건강 문제를 예방 및 완화하는 것이 삶의 질을 향상시킬 수 있는 주요 방법으로 인식하게 되었다. 한편, 우리나라는 60세 이상 노인들의 만성질환 유병률은 고혈압이 39.4%, 당뇨병이 17.7%, 심장병이 14.7%, 중풍이 8.6%로 나타났으며, 최근에는 노인들의 만성질환 중의 하나로 치매가 심각한 사회 문제로 대두되고 있다(Lee & Chang 1999; Herman 등 2001; Deschamp 등 2002). 치매는 교육수준의 저하(Merrill 등 1987; Fraser 등 1996), 영양소의 불균형에 의하여 악화될 수 있는데(Growdon 1979; Kang 1993; Rue 등 1997) 최근에는 영양소의 질적인 균형이 인지능력을 향상시킨다는 연구결과들이 있어(Park 등 1999; Lee 등 2001) 치매와 영양소간의 중요성에 대해서도 보고되고 있다. 특히, 노인성 치매 질환 가운데 알츠하이머병과 파킨슨

*Corresponding author: Sung-Hee Han, Department of Food of Nutrition, Wonkwang Health Science College, Iksan, Jeonbuk 570-749, Koea
Tel: 82-63-840-1254 Fax: 82-63-840-1259 E-mail: hansh@wkhc.ac.kr

병에 관련된 성분중의 하나로 보고된 알루미늄은 수돗물 정수처리 과정에서 광범위하게 사용되고 있는 미량 금속(Price 1986; Candy 등 1986)으로서, 환경적 노출은 물, 음식첨가제, 각종 식품, 알루미늄제 조리기구 및 용기로 1일 30-50 mg 정도 섭취된다(Bjorksten 1982).

더구나 소화기계 장애를 가진 환자의 경우는 제산제 복용으로 1일 수 mg의 알루미늄이 섭취되고, 투석 환자의 경우 다량의 알루미늄이 체내에 흡수된다고 하였다(Spencer 등 1982). 또한 알루미늄의 섭취 경로를 보면 식품에 들어 있는 발효제, 항응고제, 표백제, 유화제 등의 식품 첨가물의 사용(Committee on nutrition 1986)과 식수를 통한 섭취(Klein 1990)뿐만 아니라, 제산제, 진통제, 지사제, 항궤양성 약물 등에 많은 양의 알루미늄이 있어(Greger & Lane 1987), 이러한 경로를 통해 알루미늄이 인체에 흡수될 가능성이 매우 높아지고 있다. 정상 성인의 경우 식품으로부터 알루미늄 섭취량은 2-5 mg/day이며, 식수에서의 섭취량은 10-6,300 μg/L이고, 혈청 농도는 평균 10 μg/L 이하로 유지되며, 하루 평균 배설량은 약 13 μg으로 보고되었다(Parkinson 등 1979; Alfrey 1983; Martyn 등 1989). 한편, 알루미늄의 배설 경로는 신장을 통한 배설로 정상적인 신장 기능을 갖고 있는 사람의 조직 중 알루미늄 수준은 낮으나 신장 기능에 이상이 있는 사람은 알루미늄이 정상적으로 배설되지 못하고 조직에 축적된다고 한다(Alfrey 1983; Andreoil 등 1984; Sedman 등 1984).

알루미늄 중독 증상으로는 투석성 뇌병증, 투석 치매로 인한 알루미늄이 고농도로 대뇌피질의 회백질에 축적되며 임상학적으로는 기억의 손상과 지남력의 상실, 인지장애, 언어 및 운동장애가 있으며(Jack 등 1980), 알루미늄폐증, 신경독성, 골연화증, 골수 독성, 빈혈 등이 알려져 있다(Chan 등 1983; Last 등 1998), 또한, 알츠하이머형의 초로성, 노인성 치매 환자의 대뇌 피질과 해마에 알루미늄이 축적되고(Crapper 등 1976; Crapper & Boni 1983), 조직학적으로는 신경섬유 엉킴 형성이 나타난다고 한다(Perl & Brody 1980). 한편, 알루미늄 신경 독성에 대한 기전은 명확하게 밝혀져 있지 않으나 알루미늄과 운동 신경 세포 손상의 연관성이 클 뿐만 아니라(Goyer 등 1995), 알루미늄 농도가 높을 수록 신경병증 손상이 유의적으로 발생한다고 한다(Gupta & Shulka 1995; Flaten 등 1996).

반면에 알츠하이머병과 알루미늄의 관련성에 대한 이견도 있었으나(Deloncel & Guillard 1990; Lansberg 등 1992), 국외에서는 알루미늄 독성에 대한 연구가 계속 보고되었으나 국내 연구는 매우 미미한 실정으로 알루미늄에 대한 산화적 손상(Moon 등 2004), 알루미늄의 혈중 농도(Kim 등 2000), 밀가루 중의 알루미늄 잔류량(Choi 등 2005)등에 대한 보고가 있다.

이처럼 알루미늄은 지각 성분 중 비교적 풍부하게 존재하고 있는 금속으로서 생활환경하에서 노출 기회가 높을 뿐만 아니라 치매 발생과의 관련성 때문에 최근에 중요한 연구 대상이 되고 있는 영역이다.

따라서 본연구에서는 알루미늄이 노인성 치매에 미치는 영향을 알아보고자 정수처리장에서 오염물질의 응집제로 쓰이고 있는 알루미늄 화합물의 농도를 달리한 노령 흰쥐에게 12주간 투여하였을 경우 혈중 알루미늄 농도, 혈청 효소 활성도, 대뇌 조직의 인지질 조성, 대뇌, 소뇌, 간뇌조직의 신경 전달 물질(catechloamine)의 농도를 정상군과 비교하여 알루미늄의 경구 투여가 뇌에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이 조제

실험 동물은 Sprague-Dawley계 14주 웅성 노령 흰쥐(Samtaco Co.)를 구입하여 기본 식이로 일주일 동안 사육장 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

실험 동물의 평균 체중은 350±10 g으로 난괴법에 따라 각 군당 15마리씩 선정하여 대사케이지에서 12주 동안 사육하였다. aluminum[$Al_2(SO_4)_3$]의 공급은 일상생활에서 식수를 통하여 오염될 가능성이 높다고 보는 중금속 농도 음용수 수질 기준인 0.2 ppm을 중심으로 증류수를 급여한 대조군(control), 음용수 대신 aluminum sulfate 2 ppm군(Al-2), aluminum sulfate 20 ppm군(Al-20), aluminum sulfate 40 ppm군(Al-40), aluminum sulfate 200 ppm군(Al-200)으로 분류하여 경구 급여하였다. 사료는 <Table 1>에서 보는 바와 같이 조제식이로 자유롭게 섭취하도록 하였다. 조제식이는 AIN-76 A 실험 동물용 식이조성(Reeves 등 1993)에 따라 제조하였으며, 실험식이의 배합에 사용된 casein은 Sigma 사(USA, Co), cellulose와 mineral mixture, choline bitartrate, vitamin mixture는 ICN 사(USA)에서, corn starch와 우지는 롯데삼강에서 sucrose, corn oil은 제일제당에서 구입하여 사용하였다. 사육실의 조건은 자동 온도 조절 장치에 의해 온도 24±2°C, 습도 55-65%로 일정하게 유지하였다.

<Table 1> Composition of experimental diet (g/%)

Ingredient	Base diet
Casein	200
Corn starch	425.7
Sucrose	212.8
Corn oil	25
Beef tallow	25
AIN-93 min mix[1)]	50
AIN-93 vit mix[2)]	10
Choline bitartrate	1.5
Cellulose	50

[1),2)]AIN-93-MX minerl mixture and AIN-93-VX-Vitamin mixture (Reeves et al., 1993)

2. 실험동물의 시료 채취 및 분석

실험 종료 후 14시간 절식시킨 실험동물을 ethyl ether로 마취하여 심장경동맥에서 채혈하였다. 채혈된 혈액은 실온에서 20분간 응고시킨 다음 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리한 혈청을 분석시료로 사용하였다. 뇌조직의 적출은 단두하여 대뇌피질(cerebral cortex), 소뇌(cerebellum), 간뇌(brainstem)의 부위로 분리한 후 실험할 때까지 -70°C에서 보관하였다.

3. 체중증가량 변화, 식이섭취량, 음용수섭취량 및 식이효율

체중은 일주일에 한번씩 일정한 시간(오후 3시)에 측정하였고 섭취로 인한 일시적인 체중의 오차를 방지하기 위하여 측정 2시간 전에 식이통을 제거한 후 체중을 측정하였다. 식이 및 음용수 섭취량은 남아 있는 양의 무게를 측정하여 전날 공급량으로 빼서 일일 섭취량을 계산하였다. 또한 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 실험기간의 체중 증가량을 같은 실험기간에 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였다.

4. 혈청 중 AST, ALT, ALP 및 cholinesterase 활성 분석

Asparate aminotransferase(AST)는 AST kit 시약(Bayer, USA), alanine aminotransferase(ALT)는 ALT kit 시약(Bayer, USA) 및 alkaline phosphatase(ALP)는 ALP regent 시약으로 분석기기(ADVIA 1650, Bayer, Japan)로 IFCC 방법으로 측정하였다. cholinesterase 측정은 cholinesterase 측정용 시약(Roche, switzerland)을 이용하여 분석기기(Cobas Integra 800, Roche switzerland)로 측정하였다.

5. 뇌조직의 catecholamine 농도 분석

흰쥐로 부터 분리한 뇌 조직은 homogenization buffer (50 mM Tris-Hcl, 250 mM sucrose, 1 mM EDTA, 0.2 mM PMSF, 0.002% bacitracin, pH 7.6, 4°C)에서 균질화 시킨 후 원심분리 하였다(4°C, 3,500 rpm, 20분). 원심분리된 상등액을 Bradford법(1976)으로 단백질을 정량한 후 본 실험에 이용하였다.

Adrenalin, noradrenalin, dopamine은 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법을 이용한 TriCat ELISA kit (IBL-Hamburg, Germany)로 측정 하였다. 각 시료(4 mg/mL, 500 μL) 및 표준 시료들은 extraction plate에서 단백질을 제거시킨후 Anti-rabbit IgG가 부착된 96 well에 단백질 제거된 시료와 adrenalin, noradrenalin, dopamine 각각의 항체를 (rabbit) 넣고 2시간 동안 상온에서 반응시켰다.

2시간 반응 후 각 well을 여러 차례 세척한후 각 well에 alkaline phosphate conjugate antibody를 넣고 1시간 동안 상온에서 반응시킨 후 각 well을 여러 차례 세척하여 PNPP substrate solution을 넣고 40분간 상온에서 반응시킨다음 PNPP stop solution을 넣고 60분 이내에 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 대뇌 조직의 인지질 분리 및 정량

흰쥐로 부터 대뇌 조직을 적출한후 Folch 등(1957)의 방법에 준하여 추출하였다. 추출한 시료의 지질은 silicic acid colum chromatography(SACC)에 의하여 chloroform, acetone, methanol의 순으로 용출시켜 중성지질, 당지질, 인지질을 분획하였으며 이중 인지질 획분을 감압 농축한 후 분석 시료로 하였다. 시료의 인지질 조성은 HPLC(NS-2004GP, Futecs Co., Korea)로 분석하였다. 이때 칼럼은 Zarbax RX-SIL(4.6 mm×250 mm), 컬럼온도는 30°C, detector는 ELSD(Model 2000, Softa Co, USA), 용매는 n-hexane, isopropanol, water, 유속은 1 mL/min로 하였다.

7. 통계처리

모든 실험 결과는 실험 동물 15마리의 평균치±표준편차로 표시하며, 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, Inc, Chicago IL, USA) software package 프로그램(version 11.5)을 이용하여 $\alpha<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 식이섭취량, 음용수섭취량, 체중변화량 및 식이효율

노령 흰쥐에게 알루미늄 농도를 달리하여 급여한 실험 동물의 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 〈Table 2〉와 같다. 체중증가량은 대조군에 비하여 Al-40, Al-200 급여군 농도에서, 음용수 섭취량은 Al-200 급여군에서 유의적으로 감소하였다. Lee(1992)는 체중 증가량에서 알루미늄 급여 농도가 높을 수록 대조군에 비하여 감소되었으며 특히, 2% aluminum sulfate를 급여한 경우 유의적으로 감소하여 본 연구와 유사하였다.

2. 혈청 알루미늄 함량

〈Table 3〉에서 보는 바와 같이 식수 알루미늄 오염 원인 중의 하나로서 식수의 정화제로 사용되고 있는 aluminum sulfate($Al_2(SO_4)_3$)의 경구적 투여로 인한 노령 흰쥐의 혈청 알루미늄 농도는 대조군에 비하여 Al-200 급여군이 유의적으로 증가하였다. Lee(1992)도 대조군에 비하여 2% alumnium sulfate 급여군에서 유의적으로 높았으며, Berlyne 등(1972)은 알루미늄을 식수에 녹여 흰쥐에게 경구적으로 투여한 결과 안구출혈, 식욕감퇴 등이 관찰되었고, 대조군에 비하여 혈청 알루미늄 농도는 1% aluminum sulfate군이 1.46 μg/L, 2% aluminum sulfate군이 2.94 μg/L로 농도

<Table 2> Feed intake, water intake, body weight gain and feed efficiency ratio(FER) in old rats fed aluminum sulfate

Group	Feed intake (g/a day)	water intake (mL/a day)	body weight gain (g/12 week)	FER[4)]
Control	25.80±2.43	30.55±5.89[a]	129.4±10.46[2)a3)]	0.11±0.02
Al-2[1)]	23.23±3.27	27.77±6.42[ab]	128.50±10.81[a]	0.11±0.03
Al-20	26.14±2.88	28.49±7.64[ab]	116.50±13.18[ab]	0.09±0.02
Al-40	24.21±3.18	25.68±7.53[ab]	109.5±11.48[b]	0.09±0.01
Al-200	23.21±2.36	22.34±9.24[b]	90.90±7.50[c]	0.08±0.02

[1)]Al-2: $Al_2(SO_4)_3$-2 ppm, Al-20: $Al_2(SO_4)_3$-20 ppm Al-40: $Al_2(SO_4)_3$-40 ppm, Al-200: $Al_2(SO_4)_3$-200 ppm
[2)]Values are means±SD (n=15)
[3)]Values within a column with different superscripts letters are significantly different at <0.05
[4)]Body weight gain(g)/Food intake(g)

<Table 3> Contents of serum aluminum of old rats fed different concentration of aluminum sulfate (unit: mg/L)

Group	Aluminum content
Control	2.98±0.12[2)b3)]
Al-2[1)]	3.12±0.36[b]
Al-20	3.15±0.23[b]
Al-40	3.21±0.19[ab]
Al-200	3.89±0.31[a]

[1)]Al-2: $Al_2(SO_4)_3$-2 ppm, Al-20: $Al_2(SO_4)_3$-20 ppm Al-40: $Al_2(SO_4)_3$-40 ppm, Al-200: $Al_2(SO_4)_3$-200 ppm
[2)]Values are means±SD (n=15)
[3)]Values within a column with different superscripts letters are significantly different at <0.05

가 높을 수록 증가하여 본 결과와도 유사한 경향을 보였다.

체내로 흡수된 알루미늄은 혈액에서 알부민과 트랜스페린(transferrin)등의 단백질과 결합하여 존재하거나 이동하고 조직내 저장은 주로 골조직, 근육, 신경조직 등에서 이루어진다고 한다(Vander & Wolff 1985). Gillian 등(1990)은 혈청 알루미늄 상승 원인은 장기적으로 섭취된 알루미늄이 transferrin과의 결합력을 약하게 하여 유리 알루미늄(free aluminum)의 농도가 높아짐에 따라 혈청 알루미늄 농도가 증가한다고 한다. 따라서 식수 알루미늄 오염의 주 원인 중의 하나인 aluminium sulfate[$Al_2(SO_4)_3$]를 장기적으로 섭취할 경우 혈청 알루미늄 농도가 민감하게 반응할 것으로 사료된다.

3. 혈청 중 AST(aspartate aminotransferase) 및 ALT (alanine aminotransferase) 효소 활성도

Last 등(1988)은 혈청 중 AST 및 ALT 활성은 정상 상태에서는 효소의 활성이 낮으나 심장, 간, 근육, 혈구 등의 조직이 병적 상태에 빠지거나 질병이 발생하면 세포내에 존재하는 효소가 다량으로 혈중에 유출되어 활성이 증가되는 효소로 만성간염, 급성간염, 지방간, 간암 등 주로 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 것으로 알려졌다. 〈Table 4〉에서 보는 바와 같이 알루미늄 급여 농도를 달리한 흰쥐의 혈청 중 AST 효소활성도는 대조군에 비하여 알루미늄 급여군에서 유의적으로 증가하였고, ALT 효소 활성도는 대조군과 Al-2 급여군에 비하여 Al-40, Al-200 급여군에서 유의적으로 증가하였는데 이는 알루미늄 급여로 인해 간세포가 손상 될수 있음을 알 수 있다.

<Table 4> Activities of AST (aspartate aminotransferase) and ALT (alanine aminotransferase) in the serum of old rats fed different concentration of aluminum sulfate (unit: IU/L)

Group	AST	ALT
Control	69.00±13.10[c]	30.30±4.16[2)b3)]
Al-2[1)]	80.70±15.10[b]	33.80±2.29[b]
Al-20	83.80±11.69[b]	35.50±3.50[ab]
Al-40	86.90±11.15[a]	38.10±4.38[a]
Al-200	88.00±13.10[a]	39.80±9.89[a]

[1)]Al-2: $Al_2(SO_4)_3$-2 ppm, Al-20: $Al_2(SO_4)_3$-20 ppm Al-40: $Al_2(SO_4)_3$-40 ppm, Al-200: $Al_2(SO_4)_3$-200 ppm
[2)]Values are means±SD (n=15)
[3)]Values within a column with different superscripts letters are significantly different at <0.05

4. ALP(alkaline phosphate) 및 ChAT(choline acetyltransferase) 효소 활성도 변화

ALP의 증가는 급성 간염을 반영하는 지표로 사용되고 있는데(Bergmeyer 1995) 〈Table 5〉에서 보는 바와 같이 알루미늄 농도를 달리하여 급여한 노령 흰쥐 ALP농도는 대조군에 비하여 Al-20 이상 급여군이 유의적으로 증가하여 알루미늄 급여가 어느 정도의 간 손상을 가져 올 수 있음을 보여주고 있다.

또한 ChAT는 대조군에 비하여 알루미늄 급여 농도가 높을 수록 감소하였고, 특히 Al-200 급여군은 대조군에 비하여 40% 이상 감소하여 알루미늄이 치매를 유발하는 신경전달 물질의 acetylcholine의 감소를 가져올 수 있음을 확인할 수 있었다. Acetylcholine의 합성과 분해에 관련된 choline acetyltransferase(ChAT)와 acetylcholinesterase (AchE)의 효소 활성은 체내의 신경 전달이 원활하게 이루어지기 위해서 매우 중요하다(Schulz 2003; Oh 등 2004).

특히 뇌조직에서 acetylcholine(Ach)의 농도는 식이 choline이나 phosphatidyl choline의 보충에 의해 증가되며(Jope 1982), 이러한 Ach 농도 증가는 choline성 신경

<Table 5> Enzymatic activities of ALP(alkaline phosphate) and ChAT(choline acetyltransferase) in the serum of old rats fed different concentration of aluminum sulfate (unit: IU/L)

Group	ALP	ChAT
Control	69.00±9.82[2)c3)]	211.90±2.38[a]
Al-2[1)]	71.10±11.00[bc]	156.70±16.68[b]
Al-20	83.80±11.69[ab]	149.76±17.27[b]
Al-40	85.10±14.84[ab]	141.20±17.93[b]
Al-200	91.60±10.14[a]	125.50±9.38[c]

[1)]Al-2: $Al_2(SO_4)_3$-2ppm, Al-20: $Al_2(SO_4)_3$-20ppm Al-40: $Al_2(SO_4)_3$-40ppm, Al-200: $Al_2(SO_4)_3$-200ppm
[2)]Values are means±SD (n=15)
[3)]Values within a column with different superscripts letters are significantly different at <0.05

<Table 6> Catecholamine levels in cerebral cortex of old rats fed different concentration of aluminum sulfate (unit: ng/mL/mg tissue)

Group	dopamine	noradrenaline	adrenaline
Control	226.27±17.38[b]	9.76±2.29[b]	13.89±2.05[2)b3)]
Al-2[1)]	246.70±15.85[ab]	11.16±7.40[ab]	14.39±1.46[ab]
Al-20	256.87±19.71[ab]	11.01±3.09[ab]	14.43±2.48[ab]
Al-40	262.73±17.15[a]	13.55±3.08[a]	15.69±1.21[a]
Al-200	267.62±16.36[a]	14.35±6.03[a]	15.30±2.05[a]

[1)]Al-2: $Al_2(SO_4)_3$-2 ppm, Al-20: $Al_2(SO_4)_3$-20 ppm Al-40: $Al_2(SO_4)_3$-40 ppm, Al-200: $Al_2(SO_4)_3$-200 ppm
[2)]Values are means±SD (n=15)
[3)]Values within a column with different superscripts letters are significantly different at <0.05

세포를 활성화시키고 이로 인하여 생성된 acetylcholine esterase(AchE)의 활성 이 증가된다고 한다(Cheon 등 1999). 즉, 치매의 50% 이상을 차지하고 있는 노인성 치매 환자의 경우에는 신경전달물질인 acetylcholine의 감소와 신경세포 사멸 등의 원인으로 ChAT가 감소한다고 보고하였다(William 1977). 뿐만 아니라 알츠하이머 병 환자의 편도핵, 해마, 대뇌피질에서 ChAT와 AchE의 활성도가 감소하고(Davies & Maloney 1976), 알츠하이머형 노인성 치매 환자의 뇌중 대뇌 피질에서 ChAT의 활성도가 감소된다고(Perry 등 1980)한다.

따라서 본 연구에서 ChAT의 활성이 대조군에 비하여 알루미늄 급여군의 농도가 증가할 수록 감소하였는데 이는 흰쥐 대뇌 조직에 있어서 신경섬유 조직의 엉킴과 관련이 있음을 알 수 있었다.

5. 각 뇌조직의 Catecholamine 함량

〈Table 6〉에서 알루미늄 농도를 달리하여 급여한 노령 흰쥐 대뇌 조직의 dopamine, noradrenaline 및 adrenaline 함량은 대조군에 비하여 각각 Al-40과 Al-200 급여군이 유의적으로 증가하였다. 〈Table 7〉에서 소뇌 조직의 dopamine 함량은 대조군에 비하여 Al-200 급여군이 유의적으로 증가

<Table 7> Catecholamine levels in cerebellum of old rats fed different concentration aluminum sulfate

Group	dopamine	noradrenaline	adrenaline
Control	218.64±15.01[b]	17.33±3.34[a]	15.91±1.88[2)a3)]
Al-2[1)]	223.87±14.35[ab]	15.31±7.31[a]	11.08±0.91[b]
Al-20	225.27±13.22[ab]	13.38±1.92[ab]	10.94±0.86[b]
Al-40	234.11±13.44[ab]	11.42±4.53[ab]	10.67±0.47[b]
Al-200	259.44±18.14[a]	7.48±1.03[b]	10.63±0.73[b]

[1)]Al-2: $Al_2(SO_4)_3$-2 ppm, Al-20: $Al_2(SO_4)_3$-20 ppm Al-40: $Al_2(SO_4)_3$-40 ppm, Al-200: $Al_2(SO_4)_3$-200 ppm
[2)]Values are means±SD (n=15)
[3)]Values within a column with different superscripts letters are significantly different at <0.05

<Table 8> Catecholamine levels in brainstem of old rats fed different concentration of aluminum sulfate

Group	dopamine	noradrenaline	adrenaline
Control	259.44±17.48[a]	10.70±0.34[a]	11.30±0.95[2)a3)]
Al- 2[1)]	220.33±17.15[b]	7.62±0.24[ab]	10.66±0.81[ab]
Al- 20	212.86±14.08[ab]	6.04±0.49[b]	10.62±0.24[ab]
Al- 40	176.51±13.16[bc]	5.34±0.05[bc]	9.57±1.19[b]
Al-200	138.30±13.80[c]	4.48±0.81[c]	9.26±0.57[b]

[1)]Al-2: $Al_2(SO_4)_3$-2 ppm, Al-20: $Al_2(SO_4)_3$-20 ppm Al-40: $Al_2(SO_4)_3$-40 ppm, Al-200: $Al_2(SO_4)_3$-200 ppm
[2)]Values are means±SD (n=15)
[3)]Values within a column with different superscripts letters are significantly different at <0.05

하였고, noradrenaline과 adrenaline 함량은 대조군에 비하여 알루미늄 급여군 농도가 높을수록 감소하였다. 〈Table 8〉에서 뇌간 조직의 dopamine 함량은 대조군에 비하여 Al-2와 Al-200 급여군에서 유의적으로 증가하였으며, 대조군에 비하여 noradrenaline 함량은 Al-20 이상의 급여군이, adrenaline 함량은 Al-40과 Al-200 급여군에서 유의적으로 감소하였다. Aluminum은 AChE 외에 serotonin, dopamine, noradrenaline을 비롯한 여러 신경 전달 물질의 대사에 영향을 주며(William 1977), 특히 Kavoussi 등(1986)은 심한 요도 출혈을 막는데 사용되는 백반(aluminum potassium sulfate, aluminum ammonium sulfate)으로 관주를 시행한 환자는 대사성 산화증과 응고성 병변을 동반한 심한 뇌질환을 보이며 혈중 알루미늄 농도가 17 ng/L (정상 3-10 ng/L)까지 증가하여 실험적으로는 aluminum이 뇌질환을 일으킬 수 있다고 보고하였다. 또한 Lee(1992)는 흰쥐의 대뇌, 소뇌, 뇌간 조직의 catecholamine(noradrenaline, dopamine) 측정 결과 noradrenaline은 뇌간과 소뇌조직에서 대조군에 비하여 2% aluminum sulfate군이 유의적으로 감소한다고 한다. Beal(1989)은 알루미늄 투여시 choline acetyltransferase의 활성이 감소하고 serotonin, noradrenaline, glutamate, asparate, taurine 등이 감소하였으며, 뇌간과 소뇌 조직은 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였으나 대뇌조직에서는 감소하지 않았다고 보고하였다.

<Table 9> Phospholipid composition of cerebral cortex old rats fed of aluminum sulfate (unit: area %)

Group	phosphatidyl inositol	phoshphatidyl choline	phosphatidyl ethanolamine	phosphatidyl serine
Control	3.44±0.10[2)b3)]	62.30±8.68[a]	52.46±5.65[a]	9.84±2.68[a]
Al-2[1)]	4.44±0.67[ab]	53.91±7.46[ab]	38.61±5.52[b]	7.69±1.45[ab]
Al-20	4.88±0.52[ab]	51.73±5.59[ab]	36.99±6.37[b]	7.48±2.05[ab]
Al-40	5.32±2.19[a]	47.12±5.14[bc]	29.90±5.79[b]	6.42±1.55[b]
Al-200	5.57±1.20[a]	39.90±3.10[c]	28.13±3.45[b]	5.93±1.17[b]

[1)]Al-2: $Al_2(SO_4)_3$-2 ppm, Al-20: $Al_2(SO_4)_3$-20 ppm Al-40: $Al_2(SO_4)_3$-40 ppm, Al-200: $Al_2(SO_4)_3$-200 ppm
[2)]Values are means±SD (n=15)
[3)]Values within a column with different superscripts letters are significantly different at <0.05

본 연구에서 catecholamine 농도에서 대뇌 조직은 대조군에 비하여 알루미늄 급여 농도가 증가할 수록 유의적으로 증가하였으나 소뇌와 뇌간조직은 감소하여 Lee(1992)와 Beal 등(1989)의 결과와 유사한 것으로 이는 알루미늄이 세포막의 투과성에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

6. 대뇌조직의 인지질 분석

알루미늄 급여 농도를 달리한 노령 흰쥐에 있어서 대뇌 조직의 인지질 분석은 〈Table 9〉에서 보는 바와 같다. phosphatidyl inositol(PI)은 대조군에 비하여 Al-40, Al-200 급여군에서 유의적으로 증가하였고, phosphatidyl serine(PS)과 phoshphatidyl choline(PC)은 Al-40, Al-200 급여군이 유의적으로 감소하였으며, phosphatidyl ethanolamine(PE)은 알루미늄 급여 농도가 증가할 수록 감소하였다. Lee(1992) 등은 PE와 PC의 함량은 대조군에 비하여 알루미늄 농도가 높을 수록 유의적으로 감소하였다고 보고하여 본 결과와 유사하였다.

뇌 인질의 80%가 PC, PE, PS이며, 이중에서 choline의 80%가 PC의 형태로 존재한다(Steven 등 1990). 이는 막에 존재하는 PC가 acetylcholine을 합성하는데 필요한 choline의 저장소로서 이용되고 있으며, glycerophosphocholine (GPC)과 glycerophosphoethanolamine(GPE)이 증가하는 반면 이로부터 대사되는 phosphatidyl choline, phosphoethanolamine 등이 감소하여(Buyukysl & Richard 1990) glycerophosphocholine(GPC), glycerophosphoethanolamine (GPE)로부터 choline, ethanolamine이 유리되는데 문제가 있음을 의미한다.

또한 Akeson 등(1989)은 알루미늄이 세포막 표면 PC와의 결합력이 칼슘에 비해 560배 정도 높으며, 이러한 알루미늄과 PC의 결합이 pinocytosis에 의한 세포질 내로의 알루미늄 흡수에 중요한 역할을 할 수 있다고 한다.

특히 노인성 치매 환자의 뇌는 PC와 PE가 감소되는 반면 이들의 대사물질인 GPC는 정상군보다 67-150%, 다운증후군 환자보다 81-104% 높으며, GPE는 정상군보다 21-52%, 다운증후군 환자보다 27-92% 높다(Jan 등 1990).

이는 인지질의 비정상적인 기전이 노인성 치매 환자에게 특징적으로 나타날 가능성이 있음을 시사한다. 따라서 노령 흰쥐의 대뇌조직에서 인지질 함량 변화는 PI만 대조군에 비하여 큰차이를 보이지는 않았으나 PC, PS, PE에서 알루미늄 급여군의 감소는 알루미늄이 세포막의 주요 구성 성분인 인지질과의 결합력을 강하게 하여 알루미늄의 세포내 유입을 도와주어 세포내 알루미늄 농도를 증가시키거나 직접 인지질의 구성 성분에 변화를 초래할 뿐만 아니라 세포막의 투과성을 변화시켜 세포내 농도를 증가시킨 것으로 사료된다.

V. 결 론

알루미늄 농도를 달리하여 급여한 노령 흰쥐의 체중은 대조군에 비하여 Al-40, Al-200 급여군에서 유의적으로 감소하였고, 혈청 알루미늄 농도는 Al-200 ppm 급여군에서 유의적으로 증가하였다. 혈청 중 AST와 ALT 효소 활성도는 대조군에 비하여 알루미늄 급여군에서 증가하였으며, ALP는 대조군에 비하여 Al-20 급여군 이상부터 유의적으로 증가하였고, ChAT는 대조군에 비하여 Al-200 급여군은 40% 이상 감소하였다. 대뇌조직의 dopamine, noradrenaline, adrenaline 함량은 대조군에 비하여 Al-40 이상 급여군에서 증가하였다. 소뇌 조직의 dopamine 함량은 대조군에 비하여 Al-200 급여군에서 유의적으로 증가하였고, noradrenaline과 adrenaline 함량은 농도가 높을 수록 감소하였다. 뇌간 조직의 dopamine, noradrenaline, adrenaline 함량은 대조군에 비하여 알루미늄 급여 농도가 높을 수록 감소하였다.

대뇌조직 인지질 분석에서 Phosphatidyl inositol은 대조군에 비하여 Al-40, Al-200 급여군이 유의적으로 증가하였고, phosphatidyl ethanolamine은 농도가 높을 수록 감소하였으며, phoshphatidyl choline과 phosphatidyl serine은 대조군에 비하여 Al-40, Al-200 급여군에서 유의적으로 감소하였다.

본 연구는 인체에 미치는 독성 영향에 대해 알아보고자 수돗물 정수 처리과정에서 광범위하게 사용되고 있는 알루미늄을 음용수 대신 노령 흰쥐에게 12주 동안에 걸쳐 실험한 결과 장기간에 걸친 알루미늄 농도의 섭취 증가는 체중 감

소, 혈청 중 AST, ALT, ALP 활성도의 증가, ChAT 활성도 감소, 신경전달물질인 catechalomine 농도의 감소 및 인지질 농도에 영향을 미침을 확인할 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 2007년 한국 학술 진흥재단 우수여성과학자사업 과제번호(C00071)의 연구지원사업의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 깊은 감사를 드립니다.

■ 참고문헌

Alfrey AC. 1983. Aluminum. Advance in clinical chemistry, 23(10):69-91

Akeson MA, Munns DN, Buran RG. 1989. Absorption of Al^{+3} to phosphatidylcholine versicles. Biochim Biophys Acta, 986(1):33-40

Andreoil SP, Bergstein JM, Sherrad JD. 1984. Aluminum intoxication from aluminum-containing phosphate binders in children with azotemia not undergoing dialysis. New England Journal of medicine, 31(17):1079-1084

Beal MF, Mazurek MF, Ellison DW, Kowall NW, Solomon PR, Penelebury WW. 1989. Neurochemical characteristics of aluminum-induced neurofibrillary degeneration in rabbits. Neuroscience, 29(2):339-346

Berlyne GM, Yagil R, Ari JB, Weinderger G, Knopf E, Danovicth GM. 1972. Aluminum toxicity in rats. Lancet, 11:546-568

Bergmeyer HU. 1995. Methods of enzymatic analysis verlag chemie. Academic press weinheim, 1(2):20-28

Bjorksten JA. 1982. Dietary aluminum and Alzheimer's disease. Sci Total Environ, 25(1):81-86

Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, 72(1):248-254

Buyukysl RL, Richard JW. 1990. 4-Aminopyridine increase acetylcholine release without diminishing membrane phosphatidylcholine. J Neurochem, 54(4):1302-1309

Candy JM, Oakley A, Klinowski J, Carpenter T, Perry R, Atack J, Perry E, Blessed G, Fairbairn A, Edwardson JA. 1986. Aluminosilicates and senile plaque formation in Alzheimer's disease. Lancet, 15(1):354-357

Chan YM, Wong R, Maclean L. 1983. Epidemiologic health study of workers in an aluminum smelter in British columbia. Am Rev Respir Dis, 127(4):465-469

Cheon YM, Chang YK, Baik TK. 1999. Evidence of memory improvement by phosphatidylcholine supplement at fetus and neonate. Kor J Nutr, 32(8):864-869

Choi YH, Yoon SH, Hong HM, Kang YS, Chae KR, Lee JO. 2005. Monitoring of aluminum phospholipid residues in wheat and wheat flour. Korean J Food Sci Technol, 37(4): 532-536

Crapper DR, Boni UD. 1983. Experimental and clinical neurotoxicology. Aluminum, 32(9):326-335

Committee on nutrition. 1986. Aluminum toxicity in infants and children. Pediatrics, 78(6):1150-1160

Davies P, Maloney AJF. 1976. Selective loss of central neurons in Alzheimer's disease. Lancet, 25(2):1403

Deschamp V, Astier X, Ferry M, Rainfrary M, Emeriau JP. 2002. Nutritional status of health elderly persons living in Dordogne, France and realtion with mortality and cognitive or functional decline. Eur J Clin Nutr, 56(4):305-312

Deloncel R, Guillard O. 1990. Mechanism of Alzeheimer's disease: argument for a neurotransmitter aluminum complex implication. Neurochem Res, 15(12):1239-1245

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. J Biol Chem, 226(1):497-509

Flaten TP, Alfrey AC, Birchall JD, Savory J, Yokel RA. 1996. States and future concerns of clinical and environmental aluminum toxicology. Toxicol Environ Health, 48(6):527-541

Fraser GE, Singh PN, Bennett H. 1996. Variables associated with cognitives function in elderly california seventy day adventists. Am J Epidemiol,143(12):1181-1190

Gillian F, Paul A, Simon W, Ghose B, Lejeune J, Corbett J, Prasher V, Blair J. 1990. Defective gallium transferrin binding in alzheimer's disease and down syndrome;possible mechanism for accumulation of aluminium in brain. Lancet, 335(8719):745-750

Greger JL, Lane HW. 1987. The toxicology of dietary tin aluminum and selenium Ch 9. In nutritional toxicoligy vol II. Hathcock JN (Ed) Academic Press. New York. pp 223-230

Growdon JH, Wurtman RJ. 1979. Dietary influences on the synthesis of neurotransmitters in the brain. Nutrition Rev, 37(5):129-136

Goyer RA, Klaassen CD, Waalkes MP. 1995. Metal toxicology. Academic Press. London. pp 199-235

Gupta A, Shulka GS. 1995. Effect of chronic aluminum exposure in the levels of conjugated dienes and enzymatic antioxidants in hippocampus and whole brain of rats. Bull Environ Contain Toxicol, 55(33):716-722

Herman DR, Solomons NW, Mendoza I, Qureshi AK. 2001. Self-rated health and its realtionship to functional status and well-being in a group of elderly guatemalan subjects. Asia Pacifice J Clin Nutr, 10(3):176-182

Jan KB, Gonzalez IL, Logue M, Growdon JH, Wurtman. RJ. 1990. Levels of phosphlipid catabolic intermediates glycero-phosphocholine and glycerophos-phoetanolamine are elevated in brains of alzheimer's disease but not of down's syndrome patients. Brain Res, 536(17):240-244

Jack R, Rabin PL, Mckinney TD. 1983. Dialysis encephalpathy; a

review. Int J Psychiat in Med, 13(4):309-326

Jope RS. 1982. Effects of phosphatidylcholine administration to rats on choline in blood and choline and acetylcholine in brain. J Pharmacology Exp Ther, 220(3):322-328

Kang NE. 1993. A study on the influence of aging and nutrition on the cognitive function by the blood glucose level among elderly korean. Ewha Womans' University Doctal Thesis. pp 115-120

Kavoussi LP, Laurence DG, Andriole GL. 1986. Encephalopathy and an elevated serum aluminum level in patients receving intravesical aluminum irrigation for severe urinary hemorrage. J Urol, 136(3):665-667

Klein GL. 1990. Nutritional aspects of aluminum toxicity. Nutrition reserach review, 3(1):117-141

Kim JM, Ahn JM, Kim JI, Shin HR, Jung KY, Kim JY. 2000. Blood Lead, Manganess, Aluminum and silicon concentration in korean adults. Korean J Prev Med, 33(2):157-164

Korean national statistical office. 2006. Annual report

Krschbaum BB, Schoolwerth AC. 1989. Acute aluminum toxicity associated with oral citrate and aluminum containg antacids. American Journal Medical Science, 297(1):9-11

Lansberg JP, McDonald B, Watt F. 1992. Absence of aluminum in neurtic plague cores in Alzheimer's disease. Nature, 360(5):65-68

Last JM, Wallace RB, Connor EB, Fielding JE, Frank AL, Scutchfield FD, Tyler CW, Wenzel RP. 1998. Maxcy Rosenau-Last Public health & preventive medicine. Prentice-hall international Inc. USA. 14:494-502

Lee HS, Chang MJ. 1999. Effects of family type on the nutrient intake and nutritional status in elderly women. J Korean Soc Food Sci Nutr, 28(4):934-941

Lee L, Kang SA, Lee HO, Lee BH. 2001. Relationships between dietary intake and cognitive function level in korean elderly people. Public Health, 115(2):133-138

Lee HS. 1992. Analysis of aluminum concentration in serum and phospholipid composition and catecholamine concentration in the brain of rats fed aluminium in drinking water. Dept. of food & nutrition graduate school Sook Myung women's university

Martyn CN, Barker DJP, Osmond C, Harris EC, Edwardson JA, Lacey RF. 1989. Geographical relation between alzeheimer's disease and aluminum in drinking water. Lancet, 14(1):59-62

Merrill FE, Robbins MA, Schultz NR, Streeten DH, Penelope KE. 1987. Clinical significance of cognitive performance by hypertensive patients. Hypertension, 9(2):192-197

Moon CJ, Koh HC, Shin IC, Lee EH, Moon HR. 2004. The effects of oxidative stress induced by aluminum on cellular macromolecules in the hippocampus and cerebral cortex of rats. J Toxicol Pub Health, 20(3):213-223

Oh MH, Houghton PJ, Whang WK, Cho JH. 2004. Screening of korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholin esterase activity. Phytomedicine, 11(6):544-548

Park JS, Kang SA, Lee L, Kim JH, Jung IK, Park YJ, Lee JE. 1999. Associations between environmental factors and depression in korean elderly people. J of Arahe, 4(6):51-56

Parkinson IS, Ward HK, Feest TG, Fawett RWP, Kerr DNS. 1979. Fracturing dialysis osteodystrophy and dialysis encephalopathy. An epidemiological survey. Lancet, 24(1):406-409

Price DL. 1986. New perspective on alzheimer's disease. Annu Rev Neurosci, 9(27):489-517

Perl DP, Brody AR. 1980, Alzherimer's disease; X-ray spectrometric evidence of aluminum accumulation in neurofibrillary evidence of aluminum accumulation in neurofibrillary tangle-bearing neuros. Science, 208(18):297-299

Perry RH, Blessed G, Perry EK. 1980. Histochemical observations on cholinesterase activities on the brains of elderly normal and demented (Alzhermer-type) patients. Age-aging, 9(2):9-16

Reeves PG, Nielson FH, Fahey GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratoary rodents finial report of the American institute of nutrition and hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr, 123(11):1939-1995

Rue AL, Koehler CM, Wayne SJ, Chiulli SJ, Haland KY, Garry PJ. 1997. Nutritional status and cognitive functioning in a normally aging sample: a 6-y reassessment. Am J Clin Nutr, 65(1):20-29

Schulz V. 2003. Ginkgo extract or cholinesterase inhibitors in patients with dementia; what clinical trials and guidelines fail to considr. Phytomedicine, 10(4):74-79

Sedman AB, Wilkening GN, Bradeley PD, Warrady BA, Lum GM, Alfrey AC. 1984. Encephalopathy in childhood secondary to aluminum toxicity. Journal of pediatrics, 105(5):835-838

Spencer H, Kramer L, Norris C. 1982. Effect of small doses of aluminum containing antacids on calcaium and phosphorus metabolism. Am J Clin Nutr, 36(1):32-40

Steven AF, Buyukuysal RL, Wurtman RJ. 1990. Why do phospholipid levels decrease with repeated stimulation? A study of choline-containing compounds in rat striatum following electrical stimulation. Annal NY Acad Sci, 640(1):114-117

William RM. 1977. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. Free Radic Biol Med, 23(1):134-147

Vander VGB, Wolff FA. 1985. Distribution of aluminum between plasma and erythrocytes. Human Toxicol, 4(6):643-648

2008년 12월 29일 신규논문접수, 209년 1월 30일 수정논문접수, 3월 27일 수정논문접수, 4월 17일 수정논문접수, 4월 17일 채택