

Amanita muscaria 경구투여 시 Sprague-Dawley Rat에서의 독성병리 연구

김진 · 김형진 · 김소정 · 김병수 · 김상기 · 박병권 · 박영석 · 조성대¹ · 정지원² · 남정석³ · 최창순⁴ · 이성호 · 정지윤*공주대학교 산업과학대학 특수동물학과, ¹전북대학교 의과대학 구강병리학교실, ²서울대학교 수의과대학 공중보건학교실
³가천의과학대학교 이길여암당뇨연구원, ⁴중앙대학교 생활과학대학 식품영양과학

Received June 9, 2009 / Accepted July 8, 2009

The Toxicological Pathologic Study of *Amanita muscaria* in Sprague-Dawley Rat. Jin Kim, Hyeong-Jin Kim, So-Jung Kim, Byeong-Soo Kim, Sang-Ki Kim, Byung-Kwon Park, Young-Seok Park, Sung-Dae Cho¹, Ji-Won Jung², Jeong-Seok Nam³, Changsun Choi⁴, Seung-Ho Lee and Ji-Youn Jung*. *College of Industrial Science, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea, ¹School of Dentistry, Institute of Oral Bioscience, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea, ²College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea, ³Lee Gil Ya Cancer and Diabetes Institute, Gachon University of Medicine and Science, Incheon 406-840, Korea, ⁴College of Human Ecology, Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea* - For the toxicological pathologic study of *amanita muscaria*, we have investigated single and repeated dose toxicity in Sprague-Dawley (SD) rats. Single dose toxicity study was identified as catalepsy, incline and tail pinch methods (control 0 mg/kg, low 3.3 mg/kg, middle 16.5 mg/kg, high 33.0 mg/kg). Repeated dose toxicity study was carried out in blood tests, serum tests and histopathological methods. Neurotoxicity - muscle paralysis, and convulsion and loss of movement - was observed at 33.0 mg/kg group in the single dose toxicity study. Dysfunction of liver and kidney were shown in the repeated oral administration of the *amanita muscaria* at 3~4 weeks. Serum chemistry results revealed a marked increase of LDH [Lactate Dehydrogenase (3181.5 IU/L; normal 230-460 IU/l)], ALT [Alanine transaminase (124.0 IU/l; normal <40 IU/l)] but the kidney was normal. Histopathological results show interstitial edema and tubular epithelial necrosis in the kidney. These results suggest that *amanita muscaria* has a neurotoxic effect and causes dysfunction of liver and kidney in the SD rat.

Key words : *Amanita muscaria*, neurotoxicity, dysfunction of liver and kidney

서 론

버섯중독은 우리나라의 자연독으로서 식중독의 형태로 가장 많이 발생하며, 특히 사망자수는 다른 어느 식중독보다 큰 비율을 차지하고 있다[11]. 가을철에 빈발하며, 약 50종의 버섯이 인체에 대한 독성을 가지고 있다[2,9,13]. 버섯이라는 이름은 분류학적인 정식명칭이 아니며, 진균류가 형성하는 자실체가 육안으로도 보일 정도로 발달된 것을 말하는데, 대부분의 담자균과 일부의 자낭균이 여기에 속한다. 우리나라에서 자생하는 버섯은 8백 80여 가지로 이 가운데 식용은 1백여 가지 뿐이다[9]. 대개 독버섯은 주름버섯 목 대부분에 걸쳐서 분포하며 공통의 형태적 특징은 없으며 유독 성분은 간단한 시약으로 확인이 어렵다. 독버섯 가운데 식용버섯과 모양이 유사하여 중독 사고를 흔히 일으키는 독버섯은 주로 광대버섯 속 (*Amanitaceae*)과 갓버섯 (*Letipiota*) 속에 속하는 버섯들이다. 광대버섯 속에 속하는 버섯들은 여러 가지 독소를 함유하고 있으나, 가장 치명적인 독소는 α -amanitin으로 주로 간장과 신장에 손상을 주는 것으로 알려져 있다[15]. Amanitin에 의한 중

독은 초기에 신기능장애와 위장관 장애 등이 나타나고 24~36 시간 후부터 간 실질세포의 손상이 시작되어 3~4일 후에는 간 기능 부전까지도 발생할 수도 있다고 알려져 있다. Amatoxins 중독이 높은 사망률을 보이는 이유로는 amatoxins는 자연계에 존재하는 강력한 내인성 간 독소(intrinsic hepatotoxin) 중의 하나이며, 섭취 후 증상이 나타날 때까지의 잠복기(latent period)가 대략 12시간(6~24시간)으로 비교적 길어 그 사이에 표적장기(target organ)가 심하게 손상되고, 생리적 길항제나 인체에 투여할 수 있는 효과적인 항독소가 개발되지 않았으며, 급성신부전이나 간부전 등의 합병증에 대한 신속하고 적극적인 보조요법이 이루어 지지 않고 있다는 점을 들 수 있다. 급성 중독의 조직학적 소견으로는 중심정맥과 세동맥의 확장 및 출혈과 간 실질 세포의 급성 공포성 변성, 지방간(microvesicular fat droplets), 간의 황색위축 등의 소견을 광학현미경으로 관찰할 수 있다[1,8,20]. 이러한 광대버섯 속에 의한 중독은 유럽과 미국에서는 주로 알광대버섯 (*Amanita phalloides*)에 의한 것이나[24] 국내에서는 현재까지 보고된 버섯 중독 증례에서 대부분 정확한 버섯의 종류가 확인되지 않았다[10,11,19]. 본 실험은 산재해 있는 많은 독버섯 중에 광대버섯(*amanita muscaria*)을 사용해서 단회투여독성시험과 반복투여독성시험을 하였을 때 랫드에 어떠한 영향을

*Corresponding author

Tel : +82-41-330-1526, Fax : +82-41-330-1529

E-mail : wangza@kongju.ac.kr

미치는지에 대해 알아본 논문이다. 광대버섯(*amanita muscaria*)은 외관상 가장 독이 많아 보이는데 muscarine, bufotenine 등이 주성분으로 구토, 설사 등을 일으키며 muscarine에 의해 신경증상과 항정신작용을 나타낸다[7,18]. *Amanita muscaria*에 대한 선행연구는 많이 있지만 랫드를 대상으로 한 연구는 부족한 실정이고, *amanita muscaria*를 단회투여 하였을 때 시간경과에 따른 신경행동학적 연구와 반복투여를 하였을 때 일어나는 변화에 관한 연구가 없기에 본 연구에서 *amanita muscaria*를 랫드에게 투여하였을 때 어떠한 반응이 일어나는지에 대하여 알아보았다. 단회투여독성시험에서는 신경독성에 대해 알아보았고 반복투여독성시험에서는 신장과 간을 표적장기로 하여서 중점적으로 살펴보았다.

재료 및 방법

실험동물 및 시약

실험동물은 12주령으로 평균체중 300 g의 암컷 Sprague-Dawley Rat (중앙실험동물)을 사용하였고, 실험에 앞서 일주일 동안 순화기간을 거쳤다. 모든 실험동물은 실험동물용 고형사료 ((주)샘타코바이오코리아)와 멸균 정제된 음수를 실험 종료 시까지 자유섭취 시켰고, 투여 액량은 모두 2 ml/kg 으로 하여 실험물질과 부형제를 강제 경구투여 하였다. 실험 기간 동안 온도 23±2°C, 상대습도 50±10%, 환기 회수 10-12회/시간, 조명시간 12시간(06:00~18:00)으로 설정된 공주대학교 특수동물학과 실험동물실(생명관7층 720호)에서 실시하였다. *Amanita muscaria*는 Sigma Co. Ltd 제품을 구입하여 PBS에 녹여 사용하였다. 동물실험은 공주대학교 동물실험윤리위원회의 사전 심의를 받아 동물실험윤리위원회 규정을 준수하며 수행되었다.

단회투여독성시험

군당 3마리씩 4군(대조군, 저용량군, 중간용량군, 고용량군)으로 군 분리를 하였다. 군 분리 후 일주일 동안을 순화기간으로 설정 한 뒤 건강상태를 확인하였다. *Amanita muscaria*의 농도는 대조군의 경우 0 mg/kg, 저용량군의 경우 3.3 mg/kg, 중간용량군의 경우 16.5 mg/kg, 고용량군의 경우 33.0 mg/kg 으로 설정하였다. 투여는 경구투여로 하였고 측정은 투여 후 1, 2, 3, 4 시간 후에 강경증, 경사판법, 정압자극법을 사용하여 측정하였다.

강경증(Catalepsy)

*Amanita muscaria*가 SD 랫드에 미치는 신경독성 정도를 측정하기 위한 강경증은 Lim[14]의 방법에 따라 실시하였고, *amanita muscaria*를 설정한 농도(대조군 0 mg/kg, 저용량군 3.3 mg/kg, 중간용량군 16.5 mg/kg, 고용량군 33.0 mg/kg)로 경구투여 한 뒤 1시간, 2시간, 3시간 그리고 4시간 후에 강경증

을 측정하였다. 강경증은 두 기둥 사이에 나무막대를 연결해서 랫드가 매달릴 수 있게 실험대를 만든 후 랫드의 앞발을 올려놓아 매달리지 못하고 떨어지는데 까지 걸린 시간으로서, 각 투여군의 투여 전 강경증 시간을 기준으로 투여 후 시간 경과에 따른 강경증 시간 변화를 측정하였다.

경사판법(Incline method)

Lee [12]의 측정법에 따라 실시한 경사판법은 *amanita muscaria*를 3가지 농도(저용량군 3.3 mg/kg, 중간용량군 16.5 mg/kg, 고용량군 33.0 mg/kg)로 하여 SD 랫드에 경구투여 한 뒤 1시간, 2시간, 3시간 그리고 4시간 후에 경사판의 각도를 측정하였다. 경사판에 각도기를 설치한 뒤 경사면에 랫드를 올려놓고 기울기를 증가시켰을 때 미끄러져 내려오는 각도를 측정하였고, 각 군의 투여 전 경사 각도를 기준으로 투여 후 시간 경과 시 경사판의 각도변화를 측정하였다.

정압자극법(Tail pinch method)

랫드가 피부자극을 인지하는 시간을 측정하는 정압자극법은 진통효능과 관련된 실험에 사용하는 방법으로 Son[19]의 방법을 따라 실험을 실시하였고, 각 군에 *amanita muscaria*를 설정한 농도(대조군 0 mg/kg, 저용량군 3.3 mg/kg, 중간용량군 16.5 mg/kg, 고용량군 33.0 mg/kg)로 경구투여 한 뒤 1시간, 2시간, 3시간 그리고 4시간 후에 정압자극시간을 측정하였다. 랫드의 꼬리에 일정한 부분을 정해서 클립으로 자극을 가한 후 꼬리에 있는 클립을 물거나 공격할 때까지의 시간을 측정하였고, 각 군의 투여 전 자극 인지 시간을 기준으로 투여 후 시간 경과에 따른 자극 인지 시간의 변화를 측정하였다.

반복투여독성시험

*Amanita muscaria*의 농도는 16.5 mg/kg 로 설정하였고, 주 2회로 4주 동안 경구 투여하였으며 투여하는 날 체중, 음수섭취량, 사료섭취량의 측정을 함께 하였다. Group당 3마리씩 군 분리 (대조군, 1주차(1W), 2주차(2W), 3주차(3W), 4주차(4W))를 하였고 매주 3마리 씩 부검을 하였으며 대조군은 4주차에 부검한 랫드와 비교를 하기위하여 4주차 부검일에 같이 부검하였다. *Amanita muscaria*의 반복투여가 장기에 미치는 영향을 알아보기 위하여 부검 시간, 부신, 신장, 뇌 그리고 비장을 적출하여 포르말린에 장기를 고정시켰다. 또한 혈액, 혈청 분석을 하기 위해서 복대동맥을 통한 채혈을 실시하였다.

혈액 및 혈청 검사

16.5 mg/kg의 *amanita muscaria*를 주 2회 4주간에 걸쳐 투여를 실시하였고, 매주 부검을 실시하면서 혈액을 채취하였다. 혈액의 경우 랫드의 복대동맥에서 2 ml를 채혈해서 EDTA tube에 넣어 냉장 보관하였다. 혈액검사는 혈액분석기(IDEXX Laboratories, Inc, USA)를 이용하여 CBC (WBC; White blood

cell, RBC; Red blood cell, HGB; Hemoglobin, HCT; Hematocrit, MCV; Mean corpuscular volume, MCH; Mean corpuscular hemoglobin, MCHC; Mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT; Platelet)를 검사하였고, 혈청의 경우 채혈된 혈액을 15ml tube에 담아 뚜껑을 연 후 한 시간 동안 실온에 방치 한 뒤에 centrifuge (3,000 rpm, 15분, 26°C)로 원심분리를 한 뒤 혈청만 추출하여 냉동보관 하였다. 혈청 검사는 혈청분석기(IDEXX Laboratories, Inc, USA)를 이용하여 ALT, LDH, BUN (Blood urea nitrogen), creatinine의 수치를 측정하였다.

조직병리학적 검사

4주 동안 16.5 mg/kg의 *amanita muscaria*를 총 8회 투여하면서 투여 후 1주, 2주, 3주 그리고 4주 경과 시 부검을 실시하였다. 부검 시에 간, 신장, 부신, 비장 그리고 뇌를 적출 한 뒤 10% 중성 포르말린으로 3일 이상 충분히 고정 한 후 자동조직처리기(Shandon, Tokyo, Japan)에서 탈수 및 파라핀 침투과정을 거친 후, 파라핀 포매기(Shandon, Tokyo, Japan)로 포매하였다. 포매한 조직을 microtome (Shandon, Tokyo, Japan)으로 5 um 절편을 만들어 H&E 염색을 수행하여 광학현미경(Olympus, Japan)으로 검사하였다.

통계처리

실험을 통해 얻어진 수치와 부검 시 측정된 조직에서 산출된 모든 수치들은 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다. 유의성은 공히 95%(p<0.05) 및 99%(p<0.01)의 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

단회투여에서의 강경증, 경사판법 및 정압자극법

Fig. 1에 나타난 바와 같이 대조군 0 mg/kg, 저용량군 3.3 mg/kg, 중간용량군 16.5 mg/kg, 고용량군 33.0 mg/kg의 농

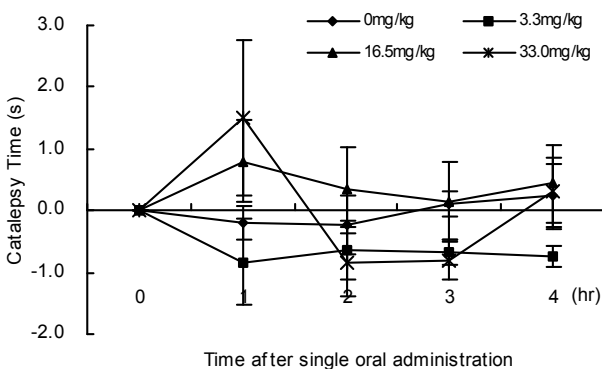


Fig. 1. Change of the catalepsy time which follow at dose of *amanita muscaria* in rats. Values were presented mean±S.E.

도로 *amanita muscaria*를 경구로 단회투여한 후 강경증을 측정 한 결과 투여농도에 따라 차이가 나타나는 것을 관찰할 수 있었다. 강경증은 동물이 강제적으로 부자연스러운 자세를 취하여 일정시간 이상 계속 유지시키는 방법으로 통상 양 앞다리를 일정한 높이로 고정한 수평막대에 걸어 뒷다리로 선 자세를 잡게 하여 근 이완을 따르지 않고 일정시간 이상 유지한 경우를 정상으로 판정한다. 질병상태에서의 신호전달체계의 연구에 사용이 되었으며, haloperidol이나 chlorpromazine의 항정신병 약은 강경증을 야기하는 추체외로계의 장애를 일으킨다[14]. 본 실험에서 *amanita muscaria*의 신경독성작용 측정 결과 저용량군, 중간용량군은 강경증이 대조군에 비하여 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 고용량군의 경우 투여 후 2~3시간 경과 시 강경증이 감소한 것을 볼 수 있었다. 투여 후 4시간 경과 시 투여전의 수준으로 강경증의 증가가 관찰되는 것으로 보아 *amanita muscaria*의 신경독성작용은 4시간 전후부터는 현격히 감소되는 것으로 판단된다.

Fig. 2에 나타난 바와 같이 경사판법은 근 이완으로 인한 운동기능 장애를 검출하는 방법으로[12] 본 실험에서 *amanita muscaria*의 신경독성 작용 측정결과 대조군, 저용량군, 중간용량군의 경우 유의적인 차이가 없었지만, 고용량군은 투여 2시간 후 대조군과 비교하였을 때 낮은 경사 각도에서도 쉽게 미끄러졌으며, 앞다리 보다는 뒷다리 쪽에서의 움직임 감소를 보였다. 투여 4시간 후에는 움직임의 회복이 관찰되었다.

Fig. 3에 나타난 바와 같이 정압자극법은 감각기능 장애의 검출법 중 기계적 자극법으로 꼬리부분에 일정한 압력을 가하여 반응 시간을 측정한다. 간편하고 일반적인 측정법으로서 진통효능과 관련된 실험에 사용하며[19] 본 실험에서 *amanita muscaria*의 신경독성 작용 측정결과 대조군, 저용량군, 중간용량군에서 SD 랫드가 자극을 인지하는 시간이 1~2초 정도로 짧고 매우 공격적인 반응을 보였지만, 고용량군에서는 자극인지 시간이 대략 3~5초로 증가하였으며, 대부분 공격적인 반응을 보이지 않는 것이 관찰되었다.

*Amanita muscaria*는 중추신경계에 작용하여 환각과 경련을 일으키는 것으로 알려져 있으며[23] 복용 후 1~2시간 뒤에

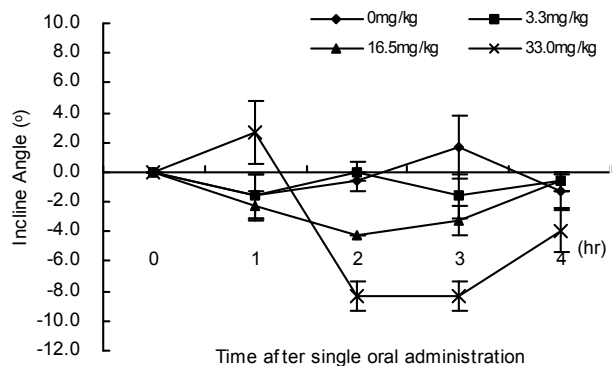


Fig. 2. Change of the Incline angle which follow at dose of *amanita muscaria* in rats. Values were presented mean±S.E.

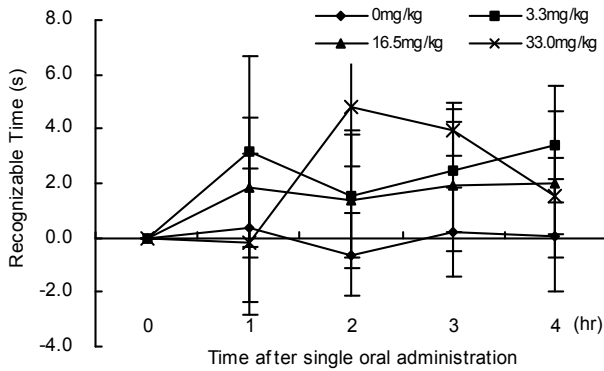


Fig. 3. Change of Tail pinch time which follow at dose of *amanita muscaria* in rats. Values were presented mean±S.E.

구토, 현기증, 시력 장애를 일으키고 이어서 이상흥분, 광란상태, 환각, 혼수, 마비 등의 증상을 나타내지만 1~2일 후 회복되고 사망률도 낮다. 이는 *amanita muscaria*가 아미노산의 일종인 이보텐산(Ibotenic acid)을 함유하고 이것의 탈탄산작용으로 생기는 무시몰(Muscimol)에 의한 중독증상이 섭취 후 1-2시간 후 일어나며 알코올 중독과 비슷한 흥분 상태에 이어 연축, 우울, 의식상실을 보이기 때문이다. *Amanita muscaria* 내에 함유된 이보텐산은 흥분성 아미노산(Excitatory Amino Acid; EAA)이며 무시몰은 탈탄산화된 유도체로써 신경전달물질인 glutamic acid와 aspartic acid를 모방한다. 이들은 EAA에 민감한 중추신경계의 신경세포를 선택적으로 죽일 수 있다. 또한 부교감 신경을 자극하여 침과 땀이 나고 맥박이 느려지며, 각종 분비항진, 호흡곤란, 위장의 경련성 수축과 구토, 설사, 방광 및 자궁의 수축 현상이 나타난다. 본 실험에서는 *amanita muscaria*를 33.0 mg/kg의 용량으로 섭취 시 2~3시간 후 신경증상과 항정신작용이 나타났고, 섭취 4시간 전후에는 *amanita muscaria*의 독성이 현저히 감소하는 것으로 확인되었다.

반복투여에서의 혈액분석 및 혈청분석

Table 1에 나타난 바와 같이 SD 랫드로부터 채취된 혈액으로 실험동물의 건강상태를 알아보고 질병의 유무를 살펴보기 위해 혈액분석을 실시하였으며, 투여군의 혈액분석수치는 대조군과 비교 시 유의적인 차이는 보이지 않았고, 실험에 사용된 SD 랫드 모두가 건강에 이상이 없는 것이 관찰되었다. 광대버섯 중독은 버섯에 함유된 치명적인 독소(toxin)인 amatoxin에 의한 전격성 간괴사와 급성신부전의 소견을 보인다[8]. 본 연구에서는 *amanita muscaria* 투여 시 간과 신장 기능의 독성병리학적 변화를 알아보기 위하여 혈청분석에서 간 기능의 영향을 알아보기 위한 지표로 ALT수치와 LDH수치를 분석하였고 신장 기능에 대한 영향을 알아보기 위하여 BUN수치와 creatinine수치를 분석하였다.

Fig. 4에 나타난 바와 같이 ALT는 간, 근육, 혈구에 장애가 있을 때 증가를 하며, 주로 간에 이상이 생겼을 때 높게 나타나는데, 총 8회에 걸쳐 16.5 mg/kg의 *amanita muscaria*를 투여한 4주차의 결과에서 높게 나타났다. LDH는 장기 손상의 비특이적 marker로 수치증가 시에 용혈성빈혈, 급성간염 등이 의심되는데, 본 실험에서 투여 기간 전반에 걸쳐 LDH의 수치는 투여군이 대조군에 비해 높게 나타났고, 투여 후 4주 경과 시 유의적인 증가가 관찰되었다. 따라서 표적장기인 간과 신장에서 기능적 손상이 일어났을 것이라고 여겨진다. BUN은 혈중 비단백성 질소의 2/3를 차지하며 신장 기능의 장애나 신부전의 발생 시 증가하고, creatinine은 신장의 배설 기능과 밀접한 관련이 있는 지표로 신부전이나 말단비대증의 발생 시 증가한다. *Amanita muscaria*를 16.5 mg/kg의 농도로 4주 동안 총 8회 반복투여한 결과 BUN, creatinine 수치는 모두 정상 범위를 나타냈다. 따라서 *amanita muscaria*를 장기간 섭취하게 되면 간 기능의 장애를 유발 시킬 것으로 판단된다. 반복투여독성 시험의 용량은 기존의 독성용량을 참고하여 설정하였고[5,21],

Table 1. Hematological values of rats orally treated with *amanita muscaria* (16.5 mg/kg)

Parameter	Control	1 Week	2 Week	3 Week	4 Week
WBC (×10 ³ /ul)	6.8±0.6	7.2±1.7	6.0±1.3	6.3±1.5	7.4±0.2
RBC (×10 ⁶ /ul)	7.4±0.5	7.3±0.5	7.3±0.2	7.6±0.2	8.0±0.2
HGB (g/dl)	13.6±0.9	13.0±0.8	14.1±0.1	14.7±0.3	14.2±0.1
HCT (%)	40.1±2.7	39.2±1.7	38.2±0.9	40.4±0.9	40.8±1.1
MCV (fL)	54.6±0.1	54.1±1.1	52.3±0.2	53.2±0.1	50.9±0.1
MCH (pg)	18.6±0.4	17.9±0.6	19.3±0.6	19.4±0.7	17.7±0.4
MCHC (g/dl)	34.0±0.7	33.2±1.3	36.9±1.2	36.6±1.5	34.7±0.6
PLT (×10 ³ /ul)	577.3±176.0	341.7±64.6	674.7±18.8	794.7±144.8	485.0±104.5
Segment (%)	15.6±2.8	19.1±1.9	24.4±4.5	10.6±2.2	15.0±0.4
Lymphocyte (%)	78.0±3.8	75.6±1.6	71.3±5.2	86.3±3.2	82.6±0.2
Monocyte (%)	4.3±0.5	3.0±0.3	3.6±1.0	2.9±0.9	1.3±0.4
Eosinophil (%)	1.3±0.4	1.6±0.3	0.6±0.2	0.2±0.2	0.9±0.1
Basophil (%)	0.8±0.3	0.8±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1	0.4±0.0

Each value was expressed as mean±S.E. WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

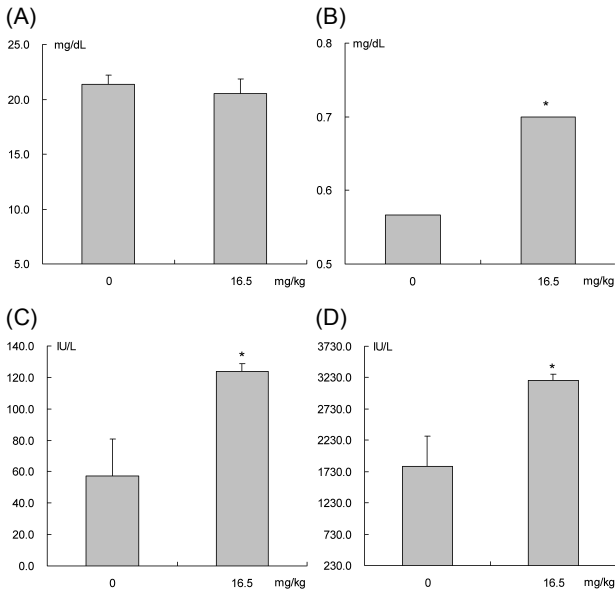


Fig. 4. Level of serum values of rats after oral administration of *amanita muscaria* for 4 weeks. A: BUN, B: Creatinine, C: ALT, D: LDH. Values were presented mean±S.E. *Significantly different from control group (p<0.05).

단회투여독성시험을 실시하였을 때 33.0 mg/kg에서 독성에 의하여 3마리의 랫드 중에서 한마리가 사망하였기에 반복투여독성시험의 투여농도를 16.5 mg/kg으로 설정하였다.

반복투여에서의 조직병리학적 검사

조직병리학적 검사를 통해 간, 신장 그리고 뇌의 독성병리학적 변화를 살펴보았다. 16.5 mg/kg의 농도로 *amanita muscaria*를 주 2회 4주 동안 투여한 후 매주 부검을 통해 조직절편을 만들었고, H&E 염색을 한 후 광학현미경으로 100배와 200배로 관찰하였다. Fig. 5A에 나타난 바와 같이 대조군의 간조직은 육안적으로 병변이 확인되지 않았으며, 조직병리학적 관찰결과에서도 병변이 나타나지 않았다. Fig. 5B에 나타난 바와 같이 투여 3주 후와 4주 후에 부검한 6마리의 SD 랫드 중 3주 차에 부검한 2마리와 4주 차에 부검한 3마리의 간조직에서는 혈관 주위에 간세포의 변성과 분열이 관찰되었다. 하지만 투여 1주 후와 2주 후에 부검을 한 6마리의 SD 랫드 모두 간조직에서는 간세포의 변성과 분열이 관찰되지 않았다. 대조군의 간조직에서도 간세포의 변성과 분열은 관찰되지 않았다. 이것으로 볼 때, *amanita muscaria*를 3주 동안 반복투여 했을 때 간에서 독성병리학적 병변이 발견되는 것으로 판단된다. Fig. 5C에 나타난 바와 같이 신장조직의 조직병리학적 관찰결과 대조군에서는 정상적인 신장 조직이 관찰되었지만, Fig. 5D에 나타난 바와 같이 *amanita muscaria*를 4주 동안 반복투여 후 부검한 조직에서는 세뇨관의 상피세포에서 다발성으로 핵이 작게 응축되거나 소실되어 세포의 경계가 불명확해지면서 세포의 괴사가 관찰되었으며, 기질 내에서는 부종과 더불어 주

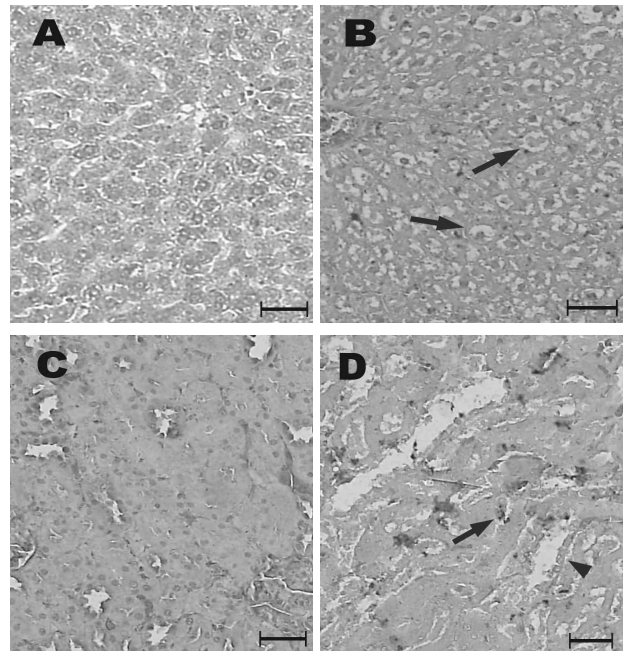


Fig. 5. *Amanita muscaria* poisoning in SD rat after oral administration of *amanita muscaria* for 4 weeks. (A) Liver of 0 mg/kg group. (B) Liver of 16.5 mg/kg group. (C) Kidney of 0 mg/kg group. (D) Kidney of 16.5 mg/kg group. (B) Arrow: hepatocyte dissociation and degeneration. (D) Arrowhead: interstitial edema, Arrow: focal mononuclear cell infiltration. H&E stain. Scale bars=50 μm

로 단핵세포들로 구성된 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 뇌조직의 조직병리학적 관찰결과 *amanita muscaria*를 3주 동안 반복투여한 SD 랫드 중 폐사한 한 마리에서 뇌혈관 주변에 스폰지 형태의 많은 공포가 관찰되었으나, 투여기간 전반에 걸쳐서 부검한 모든 뇌조직에서는 뚜렷한 병변이 관찰되지 않았다. 독버섯을 분류하는 방법은 여러 가지가 있으나 증상에 따른 분류에 의하면 7개 군으로 분류되며 각각은 특징적인 잠복기, 표적장기(target organ) 및 임상증상을 나타낸다[16,18,24]. 독버섯에 의한 중독 증상은 버섯이 함유하고 있는 독성분에 따라 각기 다르며, 한 종류의 버섯에도 여러 화학성분이 함유되어 있어 복합적인 증상이 발현되기도 한다. 독버섯 중독증은 주로 *Amanita* 속의 *A. phalloides*, *A. virosa*, *A. verna*에 의하여 발생하는데, *Amanita* 속의 버섯에는 phalloidin과 amatoxin 두 가지 종류의 독이 포함되어 있고 이중 phalloidin은 actin polymerase-depolymerase cycle에 작용하여 세포막의 기능장애를 유발하나 이는 임상적으로 중요하지 않으며, amatoxin은 nucleoplasmic RNA polymerase를 억제하여 RNA 및 단백질 합성을 억제하여 장관 상피세포, 간세포 및 신장 세뇨관세포들의 괴사를 일으킬 수 있다[2,4,18,21]. 이번 연구에서 3주 이상 반복투여를 한 SD 랫드의 조직병리학적 검사결과 간조직에서 혈관 주변 간세포의 변성과 분열이 관찰되었다. 하지만

투여 1주 후와 2주 후에 부검을 한 SD 랫드의 간 조직에서는 손상된 조직을 찾아 볼 수 없는 것으로 볼 때, *amanita muscaria*는 장기간 반복투여 했을 때 간에서 독성병리학적 병변을 유발 시키는 것으로 판단된다. 신장은 혈청분석에서 BUN수치와 creatinine수치가 정상범위로 나타났지만 조직병리학적 검사 결과 염증세포의 침윤과 함께 세뇨관 상피세포의 피사가 관찰되었다.

요 약

본 연구는 우리나라에 분포하는 광대버섯인 *amanita muscaria*로 단회투여독성시험과 반복투여독성시험을 하였을 때 SD 랫드의 독성병리학적 변화를 알아보려고 수행하였다. 단회투여독성시험은 강경증, 경사판법, 정압자극법을 이용하여 측정하였다. 강경증은 33 mg/kg의 농도에서 투여 2~3시간 후 강경증 시간이 감소하였다. 경사판법의 경우 33 mg/kg의 농도에서 투여 2시간 후 대조군과 비교하였을 때 낮은 경사 각도에서도 쉽게 미끄러졌으며, 앞다리 보다는 뒷다리 쪽에서의 움직임 감소를 보였다. 정압자극법의 경우 대조군, 저용량군, 중간용량군에서 SD 랫드가 자극을 인지하는 시간이 1~2초 정도로 짧고 매우 공격적인 반응을 보였지만, 고용량군에서는 자극인지 시간이 대략 3~5초로 증가하였으며, 대부분 공격적인 반응을 보이지 않는 것이 관찰되었다. 강경증, 경사판법, 정압자극법 모두 투여 4시간 후 대조군과 비슷한 수치로 회복되었으며 이것으로 보아 섭취 4시간 전후에는 *amanita muscaria*의 독성이 현저히 감소하는 것으로 확인되었다. 반복투여독성시험은 혈액, 혈청분석, 조직 병리학적 검사를 실시하였다. 혈청 분석에서 투여군과 대조군을 비교하였을 때 BUN과 creatinine의 변화는 없었지만 ALT와 LDH는 투여군에서 증가하였다. 이러한 결과를 바탕으로 표적장기인 간과 신장의 손상을 의심하였고 조직 병리학적 검사를 통해 간과 신장의 손상을 확인할 수 있었다.

References

1. Agostini, B., H. Wieland, R. Zimmermann, and W. Hofmann. 1978. Haemorrhagic liver necrosis and signs of shock during phalloidin intoxication. *Verh. Dtsch. Ges. pathol.* **62**, 260-265.
2. Benedict, R. G. 1972. *Mushroom Toxin Other Than Amanita*. pp. 281-320, In Ajl, S. J. (ed.), *Microbial Toxins*. Vol. **8**. Academic Press. New York.
3. Bowden, K. and A. C. Drysdale. 1965. A novel constituent of *amanita muscaria*. *Tetrahedron Lett.* **12**, 727-728.
4. William, S. and W. S. Carter. 1901. The physiological action of three poisonous toadstools - *amanita muscaria*, *amanita verna* of *bulbosa*, and *amanita phalloides*. *Am. J. Physiol.* **5**, 158-174.
5. Ott, J., P. S. Wheaton, and W. S. Chilton. 1975. Fate of muscimol in mouse. *Physiol. Chem. Phys.* **7**, 381-384.
6. Fergus, C. L. and C. Fergus. 2003. *Common Edible and Poisonous Mushroom of the Northeast*. 1st ed., Stackpole Books. Mechanicsburg, Pennsylvania.
7. Hallen, H. E., H. Luo, J. S. Scott-Craig, and J. D. Walton. 2007. Gene family encoding the major toxins of lethal *amanita* mushrooms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 19097-19101.
8. Hyun, J. H., Y. S. Kim, J. S. Hong, and C. W. Kim. 1973. Acute yellow atrophy of the liver inducing mushroom poisoning. *Korean J. Med.* **16**, 147-153.
9. Jacaues Brosse. 2005. *La magie des plantes*. 1st ed., Galapagos. Seoul. Korea.
10. Lee, K. H., J. W. Lee, B. C. Min, S. O. Choi, W. I. Jang, and S. O. Kwon. 1990. The 16 cases of fatal mushroom poisoning on 1987 in young seo region. *Korean J. Med.* **38**, 58-67.
11. Lee, T. S. 1990. The full list of recorded mushroom in korea. *Kor. J. Mycol.* **18**, 233-259.
12. Lee, Y. S. 2003. *Toxicology*. pp.285-286, 1st ed., Chunggu. Seoul. Korea.
13. Letcher, A. 2007. *Shroom : A cultural history of the magic mushroom*. 1st ed., Ecco/HarperCollins Publishers. New York.
14. Lim, D. G., K. M. Lee, and I. K. Ho. 1994. Changes in the central dopaminergic systems in the streptozotocin-induced diabetic rats. *Arch. Pharm. Res.* **17**, 398-404.
15. Michelot, D. and L. M. Melendez-Howell. 2003. *Amanita muscaria : chemistry, biology, toxicology and ethnomycology*. *Mycol. Res.* **107**, 131-146.
16. Miki, K., K. Kubota, Y. Inoue, D. R. Vera, and M. Makuuchi. 2001. Receptor measurements via Tc-GSA kinetic modeling are proportional to functional hepatocellular mass. *J. Nucl. Med.* **42**, 733-737.
17. Oda, T., C. Tanaka, and M. Tsuda. 2004. Molecular phylogeny and biogeography of the widely pistribute *amanita* species, *A. muscaria* and *A. pantherina*. *Mycol. Res.* **108**, 885-896.
18. Puschner, B., H. H. Rose, and M. S. Filigenzi. 2007. Diagnosis of *amanita* toxicosis in a dog with acute hepatic necrosis. *J. Vet. Diagn. Invest.* **19**, 312-317.
19. Son, M. W., M. H. Son, E. J. Bae, W. B. Kim, and J. I. Yang. 1997. Analgesic action mechanism of DA-5018. a new capsaicin derivative relationship to opiate receptors and prostanoids. *Biomolecules & Therapeutics* **5**, 87-93.
20. Stirpe, F. and L. Fiume. 1967. Studies on the pathogenesis of liver necrosis by alpha-amanitin. Effect of alpha-amanitin on ribonucleic acid synthesis and on ribonucleic acid polymerase in mouse liver nuclei. *Biochem. J.* **105**, 779-782.
21. Theobald, W., O. Büch, H. A. Kunz, P. Krupp, E. G. Stenger, and H. Heimann. 1968. Pharmacological and experimental psychological studies with 2 components of fly agaric (*Amanita muscaria*). *Arzneimittelforschung* **18**, 311 - 315.
22. Tomiguchi, S., T. Kira, Y. Oyama, M. Nabeshima, R. Nakashima, A. Tsuji, A. Kojima, M. Takahashi, S. Yoshimatsu, and K. Sagara. 1995. Correlation of Tc-99m GSA hepatic studies with biopsies in patients with chronic

- active hepatitis. *Clin. Nucl. Med* **20**, 717-720.
23. Tupalska-Wilczynska, K., R. Lgnatowicz, A. Poziemski, H. Wojcik, and G. Wilcznski. 1997. Amanita pantherina and Amanita muscaria poisonings-pathogenesis, symptoms and treatment. *Pol. Merkur. Lekarski* **3**, 30-32.
24. Wieland, T. 1968. Poisonous principles of mushrooms of the genus Amanita. Four-carbon amines acting on the central nervous system and cell-destroying cyclic peptides are produced. *Science* **159**, 946-952.