

Rubratoxin B가 흰쥐의 신장에 나타낸 病變에 對한 病理組織學的 研究

河 萬 擴

建國大學校 大學院 獸醫學科

Histopathologic Studies on Kidneys of Mice Administered Rubratoxin B.

Man Kwang Ha

Dept. of Veterinary Medicine, Kon-Kuk University

Abstract

The purpose of this experiment was to investigate the lesions of mice produced by intraperitoneal injection of rubratoxin B. But the mice injected 3 μ g and 5 μ g of rubratoxin B showed retardation of growth, and slight swelling of kidneys.

The hemorrhage in the renal cortex tubular dilation containing the desquamated epithelial cells, and adhesion of Bowman's spaces by proliferation of endothelial cells were histopathologically characterized in the kidneys of mice.

I. 緒 論

1960年 봄에서 가을까지 영국에서 원인불명으로 수십만마리의 칠면조가 폐사하는 사건이 발생하며 이를 X-disease라 하다가 면밀히 추구한바 케냐에서 수입된 땅콩 사료가 오염되어 발생한 것으로 판명된²⁴⁾ 이후 가축사육에 있어서 곰팡이 독소에 관한 많은 연구가 계속 진행되어 왔다.²²⁾ 따라서 곰팡이독(Mycotoxin)이란 곰팡이로 부터 생성된 毒性대사산물을 말하며 이

들에는 aflatoxin, zearalenone, ochratoxin, 및 rubratoxin 등 여러종류의 毒素가 있는 것으로 보고 되었으며^{10,31)} 이들 toxin들중 aflatoxin, ochratoxin 및 rubratoxin 등은 급, 만성 肝炎 및 腎臟炎을 유발함이 확인되었고^{1,3,7,12,14)} 한편 여러 학자들은 중금속, 화학물질 및 mycotoxin을 실험동물에 투여하여 유발된 신장염에 관하여 보고 하였다.^{4,6,8,9,11,15,18)}

즉 KHAN은 Calcium oxalate를 실험적으로 rat의 복강내로 투여하여 신세뇨관 상피세포의 괴사를 확인 하였으며, Riviere는 임상적으

로^{20,30)} 사용된 gentamycin 이 신장에 미치는 영향에 관해 보고하였다.

정³⁴⁾ 등도 오리병아리에 aflatoxin 을 경구적으로 투여하여 신장에서의 출혈 및 괴사를 확인하였다.

본 실험에서는 mycotoxin 중 야외 발생보고는 없으나 실험적으로 신장염을 유발할 수 있다는 rubratoxin B가 신장에 미치는 독성에 관해서 병리조직학적으로 관찰한 바 몇가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

실험에 사용된 흰쥐는 체중 21~24g 의 외관상 건강한 상태인 것으로 선별하였으며, 실험기간동안 mice 를 cage 에 수용하여 실온상태 하에서 사료와 물은 충분히 공급하였다.

상기 동물들은 대조군(群), rubratoxin B 1 μ g/day 투여군(I) rubratoxin B 3 μ g/day 투여군(II) 및 rubratoxin B 5 μ g/day 투여군(III) 의 4群으로 나누었으며, 각군은 모두 10마리씩 배분 실험하였다.

Rubratoxin B는 D.S.M.O **에 용해시켜서 사용하였다. 대조군을 제외한 각군 공히 용해된 rubratoxin B를 tuberculin 주사기(1cc)를 사용하여 복강내로 10일간 매일 투여하였다. 매일 투여전에는 흰쥐의 체중을 칭량하여 독성영향 및 성장을 관찰 하였으며 10일간 투여한 후 다음날 흰쥐는 해부하여 신장의 육안적소견을 관찰한 후 10% neutral formalin에 고정된 후 탈수 과정을 거쳐 5 μ m의 파라핀 절편을 만들

어 Hematoxlin & Eosin 염색을 하여 관찰하였다.

III. 結 果

1. 체중변화 및 육안적소견

Table 1에서 처럼 대조군 및 rubratoxin B 1 μ g/day 투여군은 거의 비슷한 체중증가를 보이고 있으며 1 μ g 투여군에서의 신장의 육안적 변화는 확인되지 않았다.

그러나 rubratoxin B 3 μ g/day 투여군은 체중증가가 현저하게 둔화되었으며 육안적으로도 신장의 미세한 종장 및 약간의 출혈반도 확인할 수 있었다.

그리고 전체적인 신장의 색은 약간 창백한 정도였다. rubratoxin B 5 μ g/day 투여군에서는 실험 3일째에 5마리가 폐사 하였으며, 4일째와 6일째에는 각각 한마리가 폐사하여 체중변화를 관찰하기 위한 실험자료로서는 미비하나 생존한 흰쥐는 체중감소를 나타내고 있었다.

한편 실험도중에 폐사한 흰쥐에서는 신장의 종장은 뚜렷하지 않았으나 신장의 색은 창백하였고 생존했던 흰쥐의 신장에서는 표면에 출혈반이 확인되었다.

2. 조직학적인 소견

Rubratoxin B 5 μ g/day 투여군은 실험기간 내에 7마리가 폐사하였으며, 죽은 흰쥐의 신장에서는 곡세뇨관의 약한종창 및 산발성 출혈을 확인할 수 있었다.

Table 1. Comparison of growth ratio

Group	Weight			
	Initial	After 4 days	After 7 days	After 10 days
Control	24	25.8	26	27
I	23.6	24.8	26.3	27
II	24	24.5	24.8	25.5
III	22.6	22	22	21.7

** D.M.S.O. : dimethyl sulfoxide LD₅₀0.27 mg/kg

* rubratoxin B 1mg/50cc D.M.S.O.

한편 rubratoxin B 1 μ g/day 투여군에서는 2마리에서 신피질내에서의 약한 출혈이 인정 되었으나 수질쪽에서의 출혈은 없었으며 약간의 신사구체에서의 협착이 확인되었다(Fig. 1). 그러나 신세뇨관의 확장은 인정하기 힘들었으며 약간의 피사조직 内の 핵 농축 및 단일핵소체의 존재도 미비하였다.

한편 rubratoxin 3 μ g/day 투여군에서는 피질내에서는 극소성 및 확산성 출혈을 보였으며 수질내에서는 출혈반을 확인하기 힘들었다.

신세뇨관의 상피세포가 박리되어 세뇨관 강내에서 보였으며, 약간의 신세뇨관 확장이 확인되었다. 또한 췌자원이 없어진 것도 일부에서는 확인되었다(Fig. 3). 그리고 Bowman's Capsule의 벽측막이 파열된 것이(Fig. 2) 관찰되었으며, glomerular tuft가 두세엽으로 분리된 것도 있었다(Fig. 2).

그리고 피사조직내에서는 증등도의 핵농축 및 염색질의 주변화도 확인할 수 있었다.

또한 rubratoxin B 5 μ g/day 투여군에서 3일 째에 죽은 흰쥐의 신장에서는 출혈반을 확인할 수 있었으나, 피사조직의 부위가 확산되어 있지는 않았으며, 신세뇨관의 확장 및 사구체의 모세관 내피세포의 확장에 의한 협착도 심하지 않았다.

그러나 살아남은 흰쥐는 체중감소를 보였으며 심한 확산성출혈 및 세뇨관 상피세포의 심한 피사를 확인할 수 있었으며(Fig. 5), 확장된 세뇨관 강내로 박리된 상피세포를 확인할 수 있었으며 핵농축의 정도도 심하였다(Fig. 6).

IV. 考 察

Burnside²⁾ 등은 돼지에서 mycotoxicosis를 일으킨 옥수수로부터 *Aspergillus flavus*와 *Penicillium rubrum*을 분리하였으며, *Penicillium rubrum*을 다시 옥수수에 배양한 후 돼지, 닭 그리고 양에게 급여한 결과 肝과 腎臟에서 출혈 및 출혈을 유발시켰다고 보고하였다.

그후 Wilson^{26, 26)} 등은 *Penicillium rubrum*을 당배지에 배양하여 rubratoxin을 추출하였으며, 여러 학자^{1, 17, 26, 27, 28)}들에 의해 rubratoxin에 의한 실험적 독성이 밝혀졌다.

사실상 rubratoxicosis가 자연 발생된 보고는 없으나 앞으로 rubratoxin이 곰팡이성 질병의 한 요인임은 밝혀져야 한다.

한편 rubratoxin B는 경구적으로 투여될 때보다 복강내로 주입되었을 때 실험동물에서 강한 독성을 나타내며, 사료내에 첨가하여 투여될 때 닭에서의 LD₅₀은 83 mg/kg이나 DMSO에 용해하여 복강내로 투여될 때 흰쥐에서의 LD₅₀은 0.27 mg/kg으로 보고 되었다. 이렇게 용매나 투여방법에 따라 생체에서의 반응이 일정하지 않아서 rubratoxin B가 생체에 미치는 독성에 관하여 조사함에 있어 먼저 가장 독성이 강한 복강내 주사방법을 선택하였다.

한편 Wogan²⁵⁾ 등은 흰쥐의 복강내에 aflatoxin을 일회 주사하여 24시간 후에 그 대사 패턴을 관찰한 결과 尿로 14~26% 정도로 체외로 배출되는 양이 68~73%이며 나머지가 신장에 0.2~0.4%등이 체내에 축적됨을 보고하였다.

이와같이 많은 양이 신장을 통하여 배설되고 약간의 잔유된 신장을 손상시킬 좋은 요건이라 思料되어 본 실험에서도 rubratoxin B 투여를 복강으로한 흰쥐의 부검장기를 腎臟으로 택한 것이다. Notric 등은 rubratoxin B를 실험동물에 투여한 후 근위극세뇨관 상피세포의 수양성변성과 세뇨관의 腔내에 박리된 피사조직을 확인하였다.

본 실험에서도 실질세포의 핵농축 및 핵소체의 단일화등 약한 변성과 피사를 확인하였으며 특히 5 μ g/day 투여군에서는 피사된 극세뇨관 상피세포가 腔內로 박리된 것을 관찰할 수 있었다.

Mycotoxin에 의한 신장에 있어서의 출혈은 몇가지 예가 보고되었으나 본 실험에서는 수질부 보다는 피질부에서의 출혈소견을 확인할 수



Fig. 1. Kidney from the mouse exposed to $1\mu\text{g}$ Rubratoxin B intraperitoneally for 10 days. The glomerular tuft (arrow) showed a marked increase in cellularity due to proliferation of endothelial cells, but adjacent tubules are morphologically normal. $\times 400$



Fig. 2. Kidney from the mouse injected $3\mu\text{g}$ Rubratoxin B intraperitoneally for 10 days. The glomerular tuft was a little bit lobulated and the Bowman's capsule is disintegrated (arrow). $\times 400$

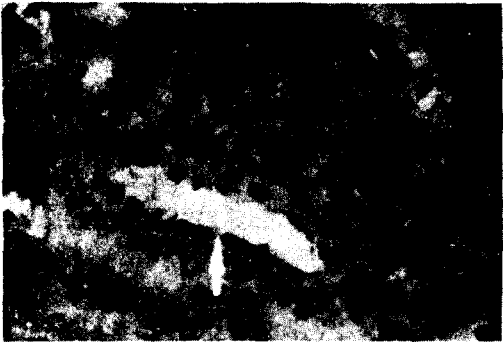


Fig. 3. Kidney from the mouse of the same group of Fig. 2. The convoluted tubule (arrow) was considerably dilated. $\times 400$



Fig. 4. Kidney from the mouse of the same group of Fig. 2. The glomerular tuft (arrow) completely was filled Bowman's capsule with hypercellularity of endothelial cells. $\times 400$

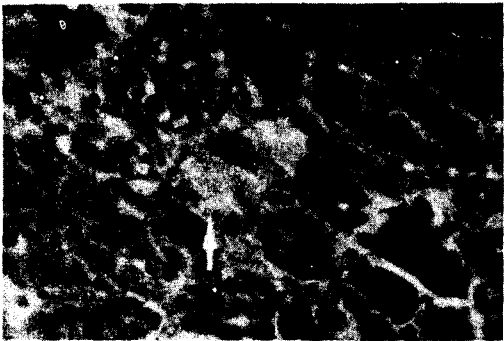


Fig. 5. Kidney from the mouse injected $5\mu\text{g}$ Rubratoxin B intraperitoneally for 10 days. The proximal convoluted tubular epithelial cells (arrow) were shown completely necrosis some pyknotic cells were visible. $\times 400$

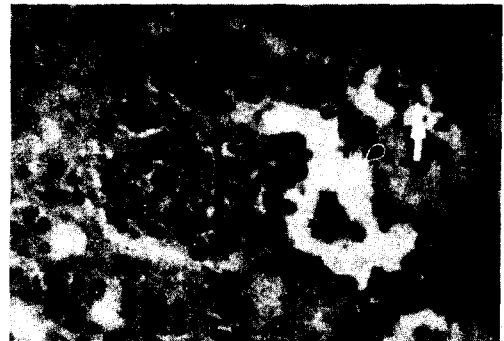


Fig. 6. Kidney from the mouse of the same group of Fig. 5. Note the dilated tubule containing desquamated epithelial cells and pyknotic nuclei (arrow) were shown in the lumen. $\times 400$

있었으며 toxin의 투여량이 증가될수록 출혈 소견도 뚜렷하였다. 한편 신세뇨관의 확장 및 신사구체 모세혈관 내피세포의 확장에 의한 Bowman腔의 소실등의 소견이 확인되었다. 사실 상 발표된 몇 예에서도 본 실험에서처럼 rubratoxin에 의한 실험동물에서의 병변이 확인되었으나 지금까지는 자연발생된 보고는 없지만 앞으로 rubratoxin이 가축사양에 영향을 미치는 곰팡이성 질병의 한 요인임이 밝혀지도록 연구를 계속해야 할 것이다.

V. 結 論

본 실험은 rubratoxin B가 흰쥐의 신장에서 나타낸 병변에 관한 병리조직학적 연구이다.

Rubratoxin B 1 $\mu\text{g}/\text{day}$ 를 복강내로 투여한 결과 체중증가는 대조군과 비슷하였으며, 조직학적인 소견은 뚜렷하지 않았다.

그러나 rubratoxin B 3 $\mu\text{g}/\text{day}$ 및 5 $\mu\text{g}/\text{day}$ 투여군은 체중증가가 둔화되었으며, 신피질에서의 출혈 및 신세뇨관의 확장과 피사박리 조직의 출현 및 신사구체의 모세관 내피세포의 증식에 의한 Bowman's space의 유착등이 뚜렷하였다.

참고문헌

1. Bailey, W.S. and A.H. Groth: The Relationship of hepatitis X of dogs and moldy corn poisoning of swine. J. Am. Vet. Med. Assoc. 135, 514-516, 1959.
2. Burnside, J.E. et al. : A disease of swine and cattle caused by eating moldy corn. II Experimental production with pure cultures of molds. Am. J. Vet. Res. 18, 817-824, 1957.
3. Buthler, W.H. and J.M. Barnes: Toxic Effects of ground nut meal containing aflatoxin to rats and guinea-pigs Br. J. cancer, 17, 699-

- 710, 1963.
4. Chew, D.J. S.P. DiBartold et al: Juvenile renal disease in Dbherman pinscher dogs. JAVMA. (5) 182, 481-485, 1983.
5. DiBartola, S.P. and P.O. Leonard: Renal Tubular Acidosis in a dog JAVMA, 182 (1), 70-73, 1982.
6. DiBartola, S.P., D.J. Chew and J.T. Boyce: Juvenile renal disease in related standard poodles. JAVMA, 183(6), 693-696, 1983.
7. Elhing, F. and T. Moller. Mycotoxic nephropathy in pigs Bull, Wld. Hlth Drg. 49, 411-418, 1973.
8. Heagsana, B.H. and A.W. Pound: Mercuric chloride-induced Tubulonecrosis in the Rat kidney : The Recovery phase Br. J. exp. path, 61, (229-241), 1980.
9. Haywood's. : The Effect of excess dietary copper on the liver and Kidney of the male rat J. comp.path., 90, (217-232), 1980.
10. Herthcote, J and R. Hibbert : Aflatoxin (chemical and Biological Aspects). Ameterdam-oxford. N.Y. (1-82), 1978.
11. Khan, R. Saeed, B. Finlayson and R.L. Hackett, Experimental calcium oxalate Nephralithiasis in Rat. Am. J. path. 107, (59-69), 1982.
12. Rogh, P. Etal : Experimental avian nephropathy Acta path, microbial, scand sect, a, 84 (215-221), 1976.
13. Laovoravit Mani : An experimental study of aspergillary infection on the central nervous system. Jpn. J. Med. Mycol, 11. (15-34), 1970.
14. Lindenfelser, L.A. E.B. Lilleho, and G.A. Sansing : Toxicity to white mice of corn-naturally contaminated with Aflatoxin. J. Agri-food chem, 24, (198-200), 1976.
15. Mikumori, Kunitosh, et al ; Chronic

- toxicity of methylmercury chloride in rats: pathological study. *Jpn. J. Vet. sci* 46(4), (549-557), 1984.
16. Natori, S. et al : Production of rubratoxin B by penicillium purpneogenum, *Appl. Microbiol*, 19. (613-617), 1970.
 17. Brien, T.D. C.A. Osborne et al clinico pathologic manifestations of progressive renal disease in Lhasa Apso and sbih T24 dogs *TAVMA*, 180. (6), (658-664), 1982.
 18. Osuna, D. C.T. Edds and C.F. Sampson : Toxicology of aflatoxinB, warfaron and cadmium in young pigs: Metal residues and pathology. *Am. J.Vet. Res*, 43. (8) (1395-1400), 1982.
 19. Richard, J.L. et al : Effect of feeding corn naturally contaminated with aflatoxin on feed efficiency, on physiologic, immunologic and pathologic changes, and tissue residues in steers. *Am.J.Vet. Res*, 44, (7), (1294-1299), 1983.
 20. Riorere, J.E., D.S. Traver and G.L. Coppoc : Gentamicin toxic nephropathy in horses with disseminated bacterial infection *JAVMA*, 1980, (6), (1648-651), 1982.
 21. Sham, A. and T.N. Nobel : Kidney lesions from mycotoxins as observed by electron microscope *Anm.Rech.Vet*, 12,(1), (75-83) 1981.
 22. Smith, J.E. : Mycotoxins and poultry management, *World's poultry science Journal*, 38, (3) (201-212), 1982.
 23. Spencer, A.J., and N.G. Wright: Glomerular lesions in chronic interstitial nephritis in the dog. histological and ultrastructural features *J. Camp. path.*, 96, (393-408).
 24. Spensley, P.C. : Aflatoxin, the active principle in turkey X-disease: *Endeavour*, 2963, 2:75.
 25. Tomsinson, T.J., V. pepman and R.L. Westlake, Vrato nephrolitiosis in ranch mink *JAVMA*, 180. (6). (622-626), 1982.
 26. Wilson. B.J. and K.D. Hanbison: Rubratoxins *TAVMA*, 163, (1274-1276), 1973.
 27. Wilson, B.J. et al : Relationship of aflatoxin to epizootics of toxic hepatitis among animals in southern united states *Am.J.Vet. Res.*, 28, (1217-1230), 1967.
 28. Wyllic, T.D. and L.G. Morehouse : Mycotoxic fungi *Marcel Dekker, inc*, 1, (299-393), 1978.
 29. Wogan, G.N, G.S. Edward, and P.M. Newborne; Acute and chronic toxicity of rubratoxin B *Toxicol., Appl. pharmacol*, 19, (712-720), 1971.
 30. Wright, N.G, and A.S, Nash: Experimental Ampicillin Glomerulonephropathy, *J. Comp., path*, 94, (357-3610), 1984.
 31. Wyllic, J.D. and L.G, Morehouse : Mycotoxic fungi *Marcel Dekker, Inc*, 1, (299-393), 1978.
 32. Yoon. H. J. : Histopathologic studies on liver in Duck lungs Administered Aflatoxin produced by Korea industrial stream of *Aspergillus flavus*. *Korean J. Vet. Res*, 15, (1), (133-142), 1975.
 33. Yun, K.B, and H.J. Yoon : Histopathologic studies on Livers in Chickens Administered Aflatoxin produced by Korean Industrial stream of the *Aspergillus flavus*.
 34. 정병현 · 윤화중 : Mycotoxin 의 亞毒性에 관한 연구
신장병변의 병리조직학적 연구, *중앙의학* 34(1), 41~47, 1978
 35. 윤화중 · 김태중 : 한국산 aflatoxin 이 오리, 병아리의 간장에서 나타낸 병변에 관한 전자현미경적 연구, *전대논문집*, 제 2 집 35~45, 1976.