

유기 게르마늄의 투여가 카드뮴 및 수은에 중독된 흰쥐 간장 및 신장조직의 metallothionein 형성에 미치는 영향

이효민 · 정 용

연세대학교 환경공해연구소

(Received February 14, 1991)

Effects of Organic Germanium on Metallothionein Induction in Liver and Kidney of Cadmium and Mercury Intoxicated Rats

Hyo Min Lee and Yong Chung

The Institute for Environmental Research, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Abstract—This study was initiated to investigate the effects of organic germanium on cadmium and mercury intoxication. The effect was determined by the metallothionein induction in liver and kidney. Male rats (Sprague-Dawley) were treated with $CdCl_2$ (2 mg/kg), $HgCl_2$ (1 mg/kg) and organic germanium (GE-132) (100 mg/kg) in single and in combination via intraperitoneal injection or intragastric administration every other days for 17 days. Experimental animals were sacrificed after 7, 12 and 17 days treatment. The serum transaminase activities (SGOT, SGPT), concentration of metal and metallothionein, metal-binding capacity of metallothionein in liver and kidney were determined and pathomorphological observations were undertaken. The combined treatment of GE-132 and $CdCl_2$ significantly decreased the increment of serum transaminase activities in rats treated with $CdCl_2$ only, but the combined treatment of GE-132 and $HgCl_2$ did not affect to activities of transaminases induced by mercury only. The concentration of metals (Cd and Hg) except Ge in the liver and kidney of rats increased with the time of treatment. Mercury concentration in kidney of rat treated with $HgCl_2$ only was significantly higher than the combined treatment of GE-132 and $HgCl_2$. The combined treatment of GE-132 and $CdCl_2$ significantly increased the concentration of metallothionein in liver compared to the $CdCl_2$ only, although the concentration of cadmium in liver were not significantly different between two groups. This indicates that GE-132 decreased toxicity of cadmium in liver by promoting metallothionein induction. There were no significant differences in metallothionein concentration in liver and kidney of rats between the combined treatment of GE-132 and $HgCl_2$ and $HgCl_2$ only. Metal-binding capacity of metallothionein varied with each time intervals in liver and kidney of metals treated rats except the liver of the combined treatment of GE-132 and $CdCl_2$. This finding explains the concentration of metallothionein in liver keeps abreast with the concentration of metal. Furthermore, the combined treatment of GE-132 and $CdCl_2$ revealed pathologically less changes in liver tissue than $CdCl_2$ only; the damages of liver cell, such as lobular necrosis and portal inflammation, were relieved and appeared more later. From the above results, organic germanium is considered to have some beneficial effect on the protection of liver from the cadmium intoxication.

Keywords □ Organic germanium, cadmium, mercury, metallothionein

카드뮴은 주로 안료, 염화비닐의 안정제, 합금 등에 사용되고 있으며 1946년 이래 일본에서 Itai-Itai 병이 발생함을 시초로 공해병으로 카드뮴 중독문제가 대두되기 시작하였다. 카드뮴이 체내에 유입되면 적혈

구와 결합하여 혈중내로 이행되어지는데 혈장내에선 고분자 단백질 특히 알부민과 결합되고, 일부는 thionein과 결합하여 metallothionein을 형성하므로 각 장기에 이행되어진다.¹⁾

체내에 유입된 카드뮴의 체내 총량 중 약 50%는 주로 간장과 신장에 축적되나, 상당히 높은 양이 간장과 신장에 축적되어도, 뚜렷한 독성효과가 나타나지 않는 것은 metallothionein(이하 MT로 표기) 형성에 기인한다고 알려지고 있다. 즉 MT에 포함(胞合)되지 않은 카드뮴이 체내에 전달되어지면서 독성증상이 나타나는 것으로 그 독성기전이 보고된 바 있다.²⁾ 카드뮴의 급성 및 만성중독에 의한 증상은 고혈압, 신장장애, 간장장애 및 빈혈 등이다.³⁻⁵⁾

수은은 그 흡수, 대사, 배설 및 독성이 화합물의 형태에 따라 달라서 수은중기(금속수은), 무기수은, 유기수은으로 분류된다. 수은은 오랜기간 동안 이노세, 방부제, 살충제 및 아말감제조 등에 사용되어 왔으며 그 섭취와 흡입으로 인한 인간의 피해는 일본의 Minamata 및 Niigata에서의 집단 유기수은 중독사고를 비롯하여 작업장에서의 급·만성중독 등이 보고되었다.^{6,7)} 수은중독의 증상으로는 금속수은의 경우 고농도의 수은중기를 흡입하면 급성중독으로 폐염·신장기능장애를 일으키며, 무기수은이 경구적으로 섭취되었을 때는 위장의 작열감을 수반하는 통증, 구토, 설사 등 격심한 소화관 장애가 나타난다. 유기수은의 경우는 초기에 구순(口唇) 주변이나, 사지말단의 지각 이상으로 시작하여 운동실조, 구음장애, 청력장애, 구심성시야협착, 정신장애 등의 신경계장애를 일으킨다.^{8,9)} 금속수은, 무기수은, 유기수은은 생체내에서 대사되는 과정에 그 형태가 서로 상호변환하게 되는데, 체내 수종의 미생물에 의한 수은중기의 methyl화,¹⁰⁾ 무기수은 이온의 methyl화,¹¹⁾ 유기수은의 무기화¹²⁾가 바로 그 예이다.

게르마늄은 유기염제체인 carboxyethylgermanium sesquioxide(GE-132)로 합성되어 최근, 각종 질병치료에 응용되고 있다. 즉 GE-132의 항종양 효과와 면역강화작용, 북막대식세포와 NK(natural killer) 세포의 활성화, 바이러스 감염의 치료 및 류마티스성 질환의 치료작용 등이 보고되었다.¹³⁻¹⁵⁾ 일반적으로 생체내에 유해성 중금속이 유입되었을 경우 자체 해독기전으로 배설이 용이한 MT를 형성하는 것으로 보고되고 있다. MT는 생체 중 간장, 신장, 비장 및 실질조직 등에 주로 존재하며, 씨스테인을 다량 함유하고 있는 저분자량의 수용성 단백질로서 -SH(sulfhydryl)기가 Cd, Zn, Hg 및 Cu 등과 같은 중금속들을 포함하여 간장 및 신장 등의 기능을 보호하는

Table I. Experimental animal group treated with CdCl₂, HgCl₂ and GE-132

Experimental group	Treated doses (mg/kg)			Number of rats*
	CdCl ₂	HgCl ₂	GE-132	
A. Control	—	—	—	15
B. CdCl ₂	2(ip)	—	—	15
C. HgCl ₂	—	1(ip)	—	15
D. CdCl ₂ +GE-132	2(ip)	—	100(ig)	15
E. HgCl ₂ +GE-132	—	1(ip)	100(ig)	15

*Animals were sacrificed after 7, 12 and 17 days

(ip): intraperitoneal injection

(ig): intragastric administration

것으로 보고되었다.^{16,17)}

MT의 생리학적 기전에 관해서는 아직까지 확실히 정립되어 있지 않으며 그 의견이 분분하다. MT가 유해중금속을 포함하여 조직의 재분배에 관여한다고 주장하는 견해도 있으며¹⁸⁾ 또한, MT가 유해중금속을 수용성으로 전환시켜 배설함으로써 해독작용에 관여한다는 견해도 있다.¹⁹⁾

카드뮴 중독은 간장과 신장에서의 MT 농도를 증가시키고 투여기간과 투여용량이 증가함에 따라 조직내 MT 농도가 증가한다고 하였으며²⁰⁾ 수은중독에 의해서도 간장과 신장에서의 MT 형성이 보고되었다.²¹⁾ 중금속간에는 생체내에서 여러 가지 길항작용을 나타내는 예가 있는데 카드뮴과 아연의 경우, 카드뮴에 의한 고환피사가 아연에 의해 저하되고²²⁾ 또한 칼슘과 철분이 체내에 부족하면 카드뮴의 흡수가 증가된다.²³⁾ 이밖에도 체내에서 중금속간의 상호작용에 관한 보고들이 계속적으로 알려지고 있으나 아직까지 카드뮴과 게르마늄간의 생체내 상호작용이나 수은과 게르마늄간의 상호작용 등은 알려지고 있지 않다. 이와 같은 배경하에 본 연구에서는 최근 광범위하게 병리적 작용을 감소 또는 해소시키는 것으로 인정되고 있는 유기 게르마늄이 카드뮴 및 수은중독에 미치는 영향을 MT 형성을 중심으로 관찰하여 보고자 하였다.

실험방법

실험재료 - 카드뮴 중독유발제로 CdCl₂(藥理化學, 일본)와 수은 중독유발제로 HgCl₂(藥理化學, 일본)를 사용하였으며, 유기 게르마늄으로는(GeC₃H₅O₂)₂O₃(carboxyethylgermanium sesquioxide : GE-132, Mi-

tsuwas pure Chemicals, 일본)를 사용하였다.

실험동물—체중이 121~147g인 생후 5~7주된 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 사용하였다. 실험시작 1주 전부터 기온 $26.5 \pm 1.9^\circ\text{C}$, 습도 $66.5 \pm 4.2\%$ 인 사육장에서 사료와 음료를 자유로이 섭취할 수 있도록 하면서 적응시켰다.

실험동물군 및 투여방법—실험동물군은 정상대조군(A군), 카드뮴 단독투여군(B군), 수은단독투여군(C군), 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군(D군), 수은 및 게르마늄 병용투여군(E군)으로 나누었다(Table I). B군은 CdCl_2 2 mg/kg을 매일 복강주사하였으며, C군은 HgCl_2 1 mg/kg을 매일 복강주사하였다. D군은 CdCl_2 2 mg/kg을 복강주사하는 동시에 GE-132 100 mg/kg을 위내 투여하였으며, E군은 HgCl_2 1 mg/kg을 매일 복강주사하는 동시에 GE-132 100 mg/kg을 위내 투여하였다. 재료 중금속은 생리식염수에 용해시켜 매일 오전 10시에 투여하였으며, D군과 E군의 유기 게르마늄 투여는 복강주사 후 1시간이 경과한 뒤 실시하였다. 위내 투여 방법은 경구용 주사기를 위장 부위까지 삽입시켜 주입하는 방법을 사용하였으며, 실험기간은 실험시작일로부터 7일, 12일 그리고 17일째로 하여 모든 실험군은 시료의 최종 투여 후 24시간이 경과한 뒤 도살하였다.

본 실험에서 게르마늄 단독투여군을 제외한 이유는 예비실험에서 5마리의 흰쥐를 대상으로 15일간 게르마늄을 경구투여한 결과 간장과 신장에서의 MT 농도가 각각 0.062 mg/g, 0.186 mg/g으로 대조군과 유사하였고 또한 혈청 transaminase 활성도 역시 대조군과 유사하여 게르마늄 단독투여의 경우, 간장과 신장에서의 MT 형성효과에 유의한 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었기 때문이다.

혈청 중 transaminase(SGOT 및 SGPT) 활성도 측정—혈액채취 17시간 전부터 사료를 차단시키고, 흰쥐를 에테르로 마취시킨 후 좌측 대퇴부 동맥에서 혈액 5 ml를 채취하여, 혈청을 얻었다. 혈청 중 glutamic oxaloacetic transaminase(SGOT) 및 glutamic pyruvic transaminase(SGPT)의 활성도는 Reitman-Frankel법²⁴⁾에 의해 측정하였으며, GOT, GPT kit (아산제약)를 사용하였다.

조직 중의 카드뮴, 수은 및 게르마늄 농도 측정—도살하여 적출한 간장과 신장 중의 카드뮴, 수은 및 게르마늄 농도를 AOAC(Association of Official Anal-

ytical Chemists, 1984) 방법²⁵⁾에 따라 측정하였다. 카드뮴 및 게르마늄은 시료를 건식회화법으로 전처리하여 카드뮴은 원자흡광도계(Atomic Absorption Spectrophotometer, AA-650, Shimadzu)로 측정하고 게르마늄은 ICP(Inductively Coupled Plasma Spectrophotometer, Labtest Equipment Comp. Australia)로 측정하였으며 시료 중 수은은 환원기화법을 적용하여 원자흡광도계(Shimadzu, AA-650)로 측정하였다.

조직 중의 metallothionein 농도 측정—간장과 신장 중의 MT 농도측정은 Onosaka 등의 방법²⁶⁾에 따라 실시하였다(Fig. 1). 최종적인 MT 농도 계산은 원자흡광도계(Shimadzu, AA-650)에 의해 검출된 카드뮴의 양을 기초로 MT 분자량 6,050g당 카드뮴 6g 원자가 포함되는 것으로 환산하여 조직 g당 mg MT 농도로 표시하였다.

조직 중의 metallothionein 금속결합능(metal-binding capacity)—조직 중의 MT 금속결합능은 Kotsonis와 Klaassen의 방법²⁷⁾에 의해 측정하였다. 이 방법은 원자흡광도계로 측정된 조직 g당 금속(Cd, Hg)의 농도를 조직 g당 측정된 MT에 결합된 금속(MT-bound Cd) 농도로 나누어 주므로써 그 비(ratio)를 구한 것인데, 이들은 기간별로 측정, 비교되었다.

조직병리학적 관찰—카드뮴 및 수은투여시 간장과 신장에서의 조직병변과 게르마늄 병용투여시의 병변을 서로 비교 관찰하기 위하여, 흰쥐를 에테르로 마취시키고 채혈 직후 개복(開腹)하여 간장과 신장을 적출한 다음 통상방법에 따라 4~5 μm 로 세절한 후 H & E(Hematoxylin-Eosin) 염색하여 조직표본을 만들어 광학현미경(100 \times , 400 \times)으로 관찰하였다.

실험결과의 통계학적 검정—통계학적 검정은 두 실험군간의 차이를 검정하는 비모수통계방법인 Mann-Whitney U test를 이용하여 실험군간의 혈청 중 transaminase 활성도, 조직 중의 중금속(Cd, Hg, Ge) 농도 및 조직 중의 MT 농도를 비교하였다.

실험결과

혈청 중 transaminase 활성도 변화—각 실험군간의 SGOT, SGPT 활성도 변화는 Fig. 2와 같았다. 모든 투여군들의 SGOT 활성도는 대조군에 비해 모든 실험

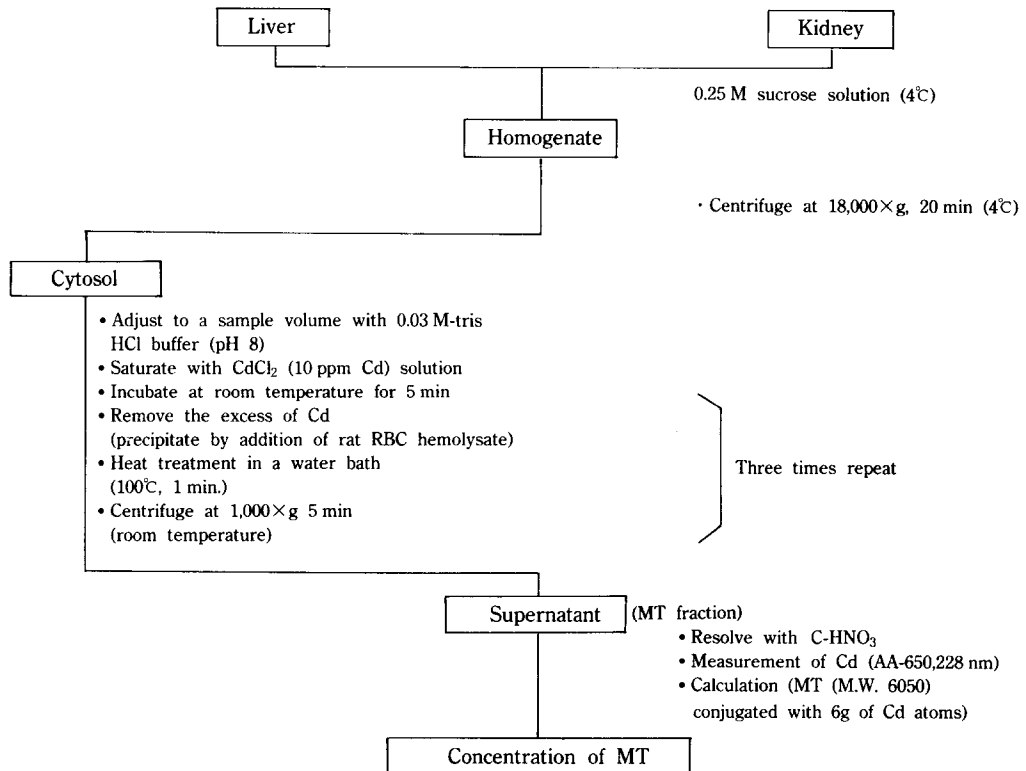


Fig. 1—Scheme of Cd-saturation method for measuring metallothionein concentration. MT: metallothionein.

험시간에서 유의하게 높았다. 카드뮴 단독투여군과 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군의 12일째, 17일째 SGOT 활성도는 각각 185 ± 24 units, 207 ± 12 units와 146 ± 11 units, 169 ± 18 units로서 병용투여군이 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 수은단독투여군과 수은 및 게르마늄 병용투여군의 경우도 17일째 SGOT 활성도는 유의한 차이가 없었으나 7일째, 12일째 활성도 비교에서는 병용투여군이 유의하게 낮은 활성도를 나타내었다(Fig. 2).

SGPT 활성도 변화 역시 대조군의 경우는 거의 변화가 없었고 모든 투여군의 경우는 투여기간이 늘어남에 따라 증가하는 경향을 보였다. 카드뮴 단독투여군의 SGPT 활성도 145 ± 10 units, 255 ± 26 units, 267 ± 18 units는 모든 실험군 중 가장 높은 것이었으며, 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군과 비교하면 모든 실험시간에서 병용투여군이 유의하게 낮은 SGPT 활성도를 나타내었고 그 차이는 25%~51% 정도였다($p < 0.05$, $p < 0.01$). 수은 단독투여군과 수은 및 게르마늄 병용투여군의 비교에서는 12일째의 활

성도를 제외하고는 서로 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2).

조직 중 카드뮴, 수은 및 게르마늄 농도—카드뮴, 수은 및 게르마늄의 각 조직내 농도는 카드뮴과 수은의 경우, 대조군과 비교하여 투여군에서 유의하게 증가하여 축적되는 경향을 보였으나, 게르마늄의 경우는 모든 실험군에서 0.02 ppm 이하의 대조군과 유의한 차이가 없는 낮은 농도를 나타내었다(Fig. 3). 카드뮴은 주로 신장에서 보다 간장에서 더 축적되는 경향을 보였으며 카드뮴 단독투여군과 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군간에 통계학적 유의한 차이는 간장과 신장에서 모두 나타나지 않았다. 수은의 경우 카드뮴과는 다르게 간장에서 보다 신장에 더 축적되는 경향을 보였으며, 수은 단독투여군과 수은 및 게르마늄 병용투여군의 신장에서의 수은농도를 비교하여 보면 $20.67 \mu\text{g/g}$, $34.75 \mu\text{g/g}$, $36.69 \mu\text{g/g}$ 의 수은 단독투여군에 비하여 병용투여군이 각각 $9.89 \mu\text{g/g}$, $12.16 \mu\text{g/g}$, $16.72 \mu\text{g/g}$ 을 나타내어 병용투여군이 유의하게 낮았다(Fig. 3). Fig. 3에서 보는 바와 같이 모든 투

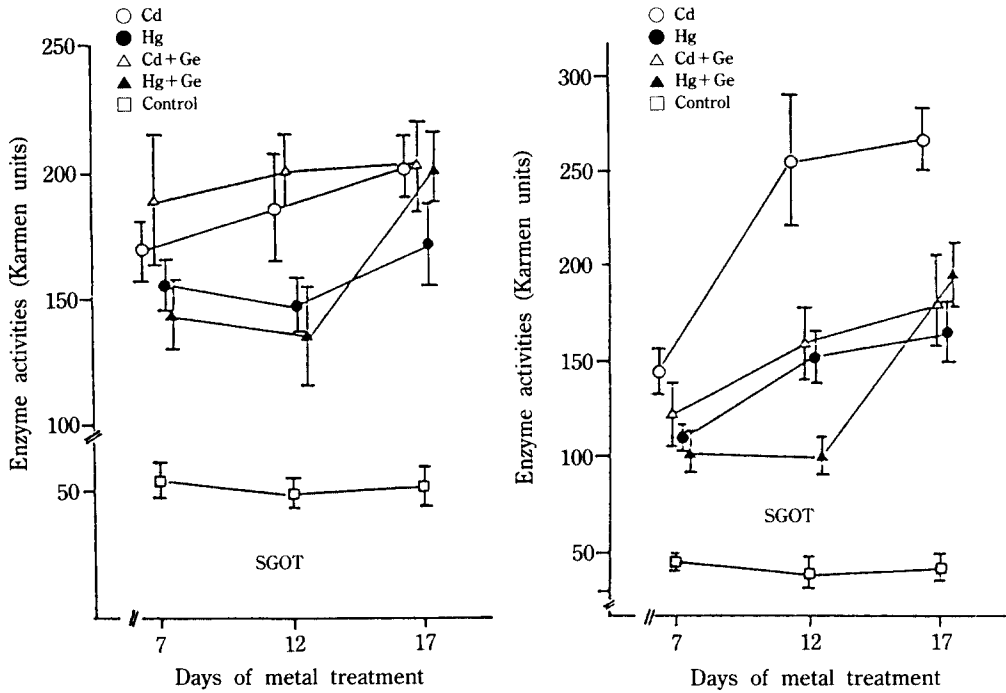


Fig. 2—Variation of SGOT and SGPT activities in rats treated with CdCl₂ (2 mg/kg), HgCl₂ (1 mg/kg) and GE-132 (100 mg/kg).

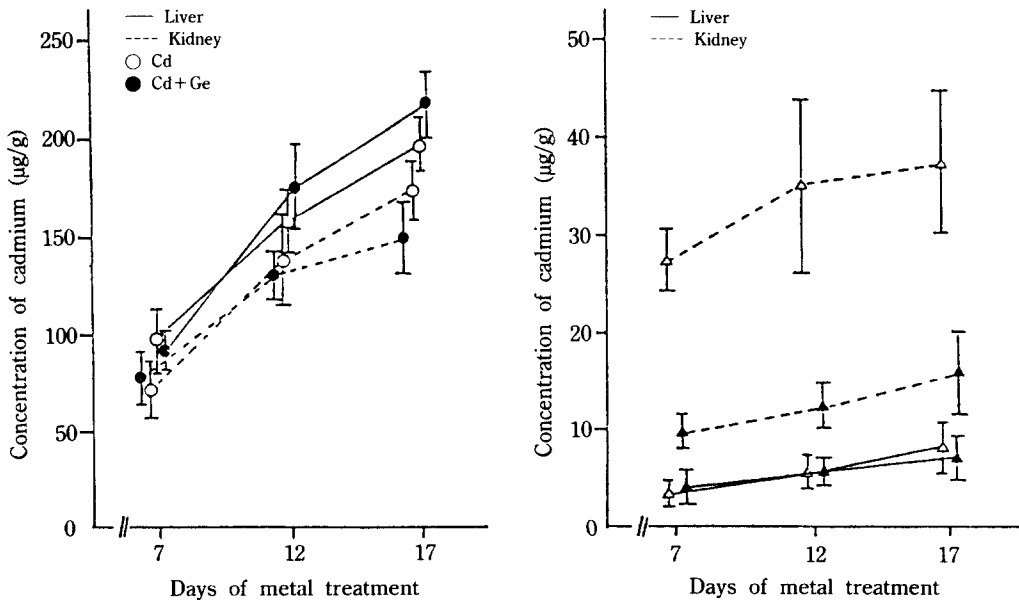


Fig. 3—Concentration of metal in liver and kidney of rats treated with CdCl₂ (2 mg/kg), HgCl₂ (1 mg/kg) and GE-132 (100 mg/kg).

Table II—Concentration of metallothionein (MT) in Liver and Kidney of Rats treated with CdCl₂, HgCl₂ and GE-132 (unit: mg/g)

Experimental group and treatment (dose: mg/kg)	Liver			Kidney		
	7 ^{a)}	12 ^{a)}	17 ^{a)}	7 ^{a)}	12 ^{a)}	17 ^{a)}
A. Control	0.08 (0.02)	0.05 (0.01)	0.07 (0.02)	0.14 (0.07)	0.20 (0.05)	0.17 (0.03)
B. CdCl ₂ (2)	5.65 (0.67)	6.15 (0.76)	8.01 (0.83)	4.73 (0.83)	5.49 (0.17)	6.48 (0.37)
C. HgCl ₂ (1)	1.21 (0.53)	1.95 (0.83)	2.42 (0.60)	3.02 (0.86)	4.10 (0.41)	4.54 (0.46)
D. CdCl ₂ (2)+GE-132 (100)	6.25 (0.57)	12.50* (1.37)	14.32* (1.86)	4.02 (0.54)	5.13 (0.46)	6.73 (0.82)
E. HgCl ₂ (1) GE-132 (100)	1.01 (0.34)	2.02 (0.67)	2.25 (0.47)	3.92 (0.71)	4.42 (0.36)	4.66 (0.54)
F. GE-132 (100) ^{b)}		0.06 (0.02)			0.19 (0.03)	

Each value represents the mean (S.E.) (n=5)

^{a)}Day of experiment

^{b)}GE-132 pretreatment for 15 days.

This value was not significantly different from that of control group.

*p<0.01 compared with B group

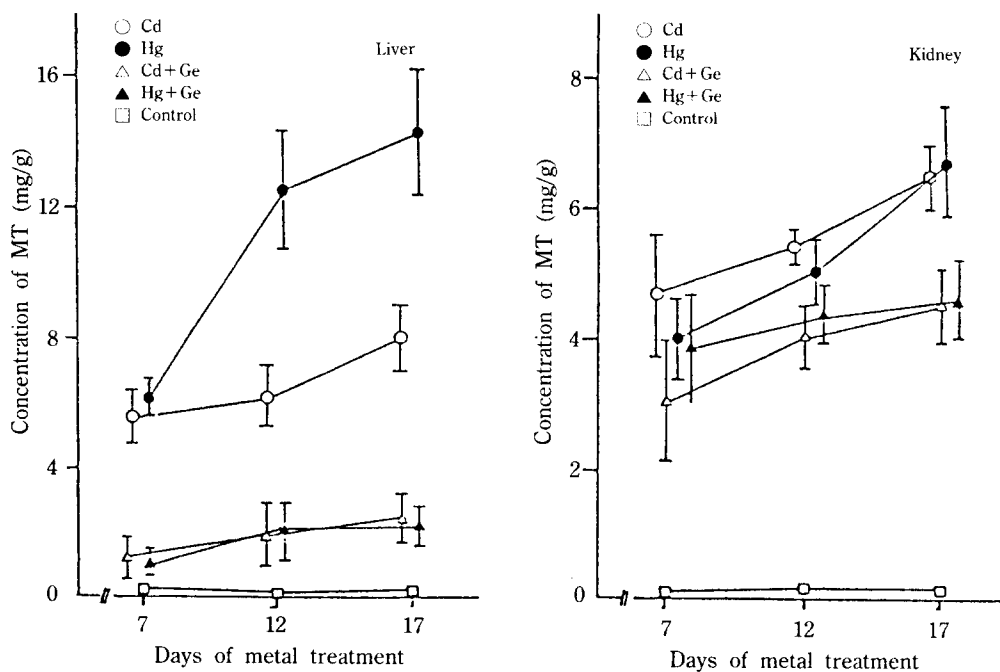


Fig. 4—Concentration of metallothionein in liver and kidney of rats treated with CdCl₂ (2 mg/kg), HgCl₂ (1 mg/kg) and GE-132 (100 mg/kg).

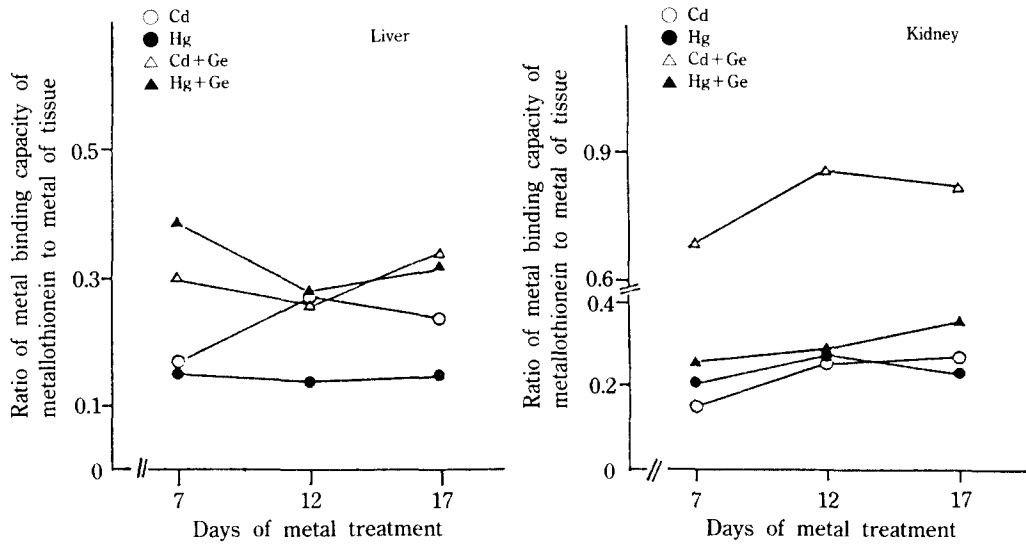


Fig. 5—Ratio variation of the metal-binding capacity of metallothionein to the metal concentration in liver and kidney of rats treated with CdCl₂ (2 mg/kg), HgCl₂ (1 mg/kg) and GE-132 (100 mg/kg).

여군의 기간별 축적농도는 투여기간이 늘어남에 따라 증가하였으나, 그 축적율은 같지 않았다.

조직 중의 metallothionein 농도—간장에서의 대조군 MT 농도 0.05~0.08 mg/g과 신장에서의 대조군 MT 농도 0.14~0.20 mg/g에 비하여 모든 투여군의 MT 농도는 유의하게 높았다(Table II). 카드뮴 단독투여군과 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군의 MT 농도를 비교하여 보면 두 투여군 모두 신장에서 보다 간장에서의 농도가 더 크게 나타났으며, 특히 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군의 12일째 이후의 간장 MT

농도는 12.50 mg/g과 14.32 mg/g으로서 카드뮴 단독 투여군의 6.15 mg/g, 8.01 mg/g에 비하여 유의하게 높았다(p<0.01). 그러나 신장에서의 MT 농도는 서로 유의한 차이를 나타내지 않았다.

수은 단독투여군과 수은 및 게르마늄 병용투여군의 경우, 간장과 신장에서의 MT 농도는 간장에서 1.01~2.42 mg/g의 범위로, 신장에서는 3.02~4.66 mg/g의 범위로 측정되어 두 투여군간에 유의한 차이가 없었다(Table II, Fig. 4).

조직 중의 metallothionein 금속결합능(metal-bind-

Table III—Light microscopic observation of the liver and kidney of rats treated with CdCl₂, HgCl₂ and GE-132

Experimental group and treatment (dose: mg/kg)	Liver						Kidney					
	Lobular necrosis			Portal inflammation			Tubular damage			Focal necrosis		
	7 ^a	12 ^a	17 ^a	7 ^a	12 ^a	17 ^a	7 ^a	12 ^a	17 ^a	7 ^a	12 ^a	17 ^a
A. Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. CdCl ₂ (2)	+	++	+++	-	-	+	-	-	+	-	-	+
C. HgCl ₂ (1)	-	+	++	-	-	+	-	-	+	-	+	++
D. CdCl ₂ (2)+ GE-132 (100)	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
E. HgCl ₂ (1)+ GE-132 (100)	-	+	++	-	-	+	-	-	+	-	+	++

^aExperimental days

-: normal, +: slightly change, ++: moderate change, +++: severe change

ing capacity) - 간장과 신장조직에서 형성된 MT의 금속결합능을 측정하기 위하여 조직내의 금속(Cd, Hg) 농도와 MT에 결합된 금속(MT-bound Cd) 농도와의 비(ratio)를 구한 결과 Fig. 5와 같았다. 카드뮴과 게르마늄 병용투여군의 간장을 제외하고는 모든 투여군에서 각 기간마다 비의 변화를 보였다. 특히 현저한 변화를 나타내는 실험군은 수은 단독투여군의 신장으로서 7일과 12일 사이의 비가 큰 폭으로 상승하였다.

조직병리학적 변화 - 카드뮴, 수은 및 게르마늄의 투여로 유발된 간장조직과 신장조직의 변화는 Table V와 같았다. 카드뮴과 수은의 투여로 인하여 간장조직내에는 대체로 간소염내에 변화가 있었으며 문맥의 변화는 후기에만 다소 관찰될 뿐 그 정도가 미약하였다. 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군의 경우, 카드뮴 단독투여군에 비하여 간소염의 괴사 정도가 훨씬 적었다. 그러나 신장조직의 변화는 전체 실험군에 그 변화를 쉽게 볼 수 없었으며 또한 두 투여군의 후기에만 세관손상과 괴사 등의 변화를 관찰할 수 있었을 뿐 그 정도가 미약하였다.

수은 단독투여군과 수은 및 게르마늄 병용투여군의 간장조직내 병변 역시 간소염내의 변화와 후기에 관찰되는 문맥의 변화가 다소 관찰되었으나 별다른 차이를 발견할 수 없었으며, 신장조직내 세관손상과 괴사 등의 변화도 카드뮴 투여군들에 비하여 그 정도가 뚜렷하게 관찰되었을 뿐 두 실험군간의 차이는 발견할 수 없었다(Table V).

고 찰

카드뮴 투여에 의한 간장과 신장에서의 MT 농도 비교는 연구방법에 따라 신장에서의 농도가 높게 형성된 보고도 있었고, 간장에서의 농도가 더 높게 형성된 보고도 있었다.^{20,27)} 이외에도 카드뮴 화합물에 의한 만성중독으로 간장과 신장의 비대 및 조직손상 유발, cytochrome P-450 등과 같은 간효소 활성화 저하 등이 밝혀지고 있다.^{28,29)}

게르마늄은 인체에 400~3,500 µg/day 정도로 흡수되는 희귀금속으로 Schroeder 등³⁰⁾에 의하면 흰쥐를 대상으로 음료수에 게르마늄을 5 ppm 농도로 360 일간 투여하여 만성실험한 결과, 성장율과 생존율 및 간장 및 신장조직의 병리학적 검경에서 대조군과 차

이가 없다고 하였으며 한편, 비글개(beagle-dogs)를 대상으로 GE-132를 125, 250, 500 mg/kg의 용량으로 각각 매일 6개월간 정맥 주사하였을 때 일반임상검사, 혈액학적 검사, 병리조직학적 검사 및 SGOT, SGPT 등의 혈청 생화학적 검사를 실시한 결과 역시 전혀 독성이 없는 것으로 보고되고 있다.³¹⁾

본 실험결과에 의하면, 카드뮴 단독투여군과 게르마늄 병용투여군의 간장조직내 카드뮴 축적농도는 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 간장조직내 MT 농도는 게르마늄 병용투여군에서 유의하게 높게 나타나 게르마늄이 MT 형성을 촉진시켰음을 알 수 있었다. 현재까지 게르마늄의 MT 형성에 관한 연구는 찾아볼 수 없었고 본 연구의 예비실험에서도 게르마늄 단독투여군의 경우 정상군과 차이가 없었으므로 본 실험에서 카드뮴과 게르마늄의 관계는 Merali와 Singhal³²⁾의 보고인 중금속간의 생체내 길항작용, 즉, 카드뮴에 의한 간장 및 췌장기능 장애가 아연의 비경구적 투여에 의해 MT 형성을 촉진시키므로 예방되었다고 하는 결과와 유사점이 있다고 생각된다. 이와 같은 결과는 게르마늄 병용투여군이 카드뮴 단독투여군에 비하여 SGPT 활성도가 유의하게 낮아 간장에서 카드뮴에 의한 효소장애 독성을 게르마늄이 어느 정도 저하시켰다는 결과와 일관되며, 또한 간장조직의 병리조직학적 관찰결과에서도 괴사 및 염증세포의 침윤 정도가 보다 더 경미하고 기간적으로 늦게 관찰되었다는 것까지도 일치하는 것이었다.

GPT 효소는 간장내에 가장 많이 존재하여, 간 손상의 여부를 가장 확실하게 확인할 수 있는 효소로서 게르마늄 병용투여군의 유의한 수치저하는 의미가 크다고 하겠다.

Suzuki와 Yamamura³³⁾의 연구결과에 의하면 카드뮴은 흰쥐에 주사된지 6시간내에 혈청에서 간장으로 이행되어 대부분이 MT 형태로 존재하고, 약 3일이면 대사되는 것으로 보고하였는데, 이러한 사실을 본 연구결과와 비교하여 볼 때 게르마늄 병용투여군의 조직내 카드뮴 농도가 카드뮴 단독투여군에 비하여 통계학적으로 유의하진 않았으나 카드뮴 축적 정도가 간장에서는 약간 높게, 신장에서는 약간 낮게 나타나 간장에서의 높은 수치는 카드뮴의 대사가 촉진되어 즉, MT 형성이 많기 때문인 것으로 생각되며, 신장에서의 낮은 수치는 MT를 형성하여 배설되었기 때문인 것으로 여겨진다.

한편, GE-132를 대상으로 한 일부 임상실험보고에 의하면, 흰쥐에 대해 1일 100 mg/kg의 용량으로 경구 및 정맥투여하였을 때 게르마늄의 축적은 없었고, 또한 장기간의 투여에서도 SGOT, SGPT 및 ALP(alkaline phosphatase)의 수치에 아무런 변화가 관찰되지 않았다고 알려지고 있어³¹⁾ 본 실험에서도 게르마늄의 축적이 거의 없었으므로 일정용량에서는 투여량의 대부분이 24시간 이내에 배설되는 것을 알 수 있었다.

그러나 Schroeder 등³⁰⁾은 흰쥐조직 특히 간장과 폐 등에 게르마늄이 다량 축적된다고 하였고, 이같은 현상은 마우스의 경우 모든 조직에서 관찰된다는 보고도 있어³⁴⁾ 추후, 게르마늄의 조직내 축적여부에 관한 보다 많은 연구가 요구되어진다.

일반적으로 MT는 중금속들에 의해 직접적 형성이 용이하나 알콜 혹은 감염, 영양상태와 그밖의 여러 가지 스트레스나 환경적 요인에 의해서도 간접적 형성이 유도되는 것으로 알려지고 있으며 또한, 중금속들의 투여경로에 따라서도 그 형성 정도에 차이가 있는 것으로 밝혀지고 있다.^{35,36)} MT의 형성 정도와 그 생리학적 기전에 관해서는 여러 가지 학설이 전해지고 있으나, Kotsonis와 Klaassen²⁷⁾과 같이 카드뮴에 급성중독된 흰쥐에서 간장독성이 현저하게 관찰되나 카드뮴을 저농도로 장기간 섭취시켰을 때는 간장에서 MT의 농도가 증가하여 카드뮴에 대해 내성을 나타냈다는 결과를 고찰해 볼 때, 체조직의 카드뮴 축적농도는 유사하나 MT 형성 정도가 높다는 것은 체조직을 보호한다는 의미로 생각할 수 있으며 또한 게르마늄 병용투여군에서의 게르마늄 효과는 알콜이나 감염과 같은 간접적 효과와는 차이가 있고, 카드뮴과 아연과 같이 생체나 아연농도가 증가하면서 길항작용을 나타내는 현상과도 본 실험에서는 게르마늄 축적이 거의 나타나지 않았으므로 차이가 있어, 앞으로 카드뮴과 게르마늄간의 상호작용연구에서 게르마늄에 의한 MT 생성기전을 밝히는 연구가 필요하다고 여겨진다.

수은투여에 의해 간장과 신장에서 MT와 수은이 착화합물 형태로 존재함이 밝혀졌고 수은의 경우도 장기적인 경구투여 및 비경구투여에 의해 간장과 신장에서의 MT 농도가 투여용량이 증가함에 따라 증가하는 현상을 보였으며 최근의 연구결과에 의하면 수은 화합물은 간장에서 보다 신장에서 MT를 더 많이

형성하는 것으로 알려지고 있다.^{17,20)}

Piotrowski 등²⁰⁾의 연구결과에서는 급성 중독시 수은은 간장에 어느 정도 축적되며 MT도 형성하지만, 만성중독시는 간장에 거의 축적되지도 않고 MT도 거의 형성하지 않은 것으로 밝혀지고 있다. 본 실험에서도 수은투여군들의 수은 축적농도가 간장에 비해 신장에서 모두 유의하게 높았으며, MT 형성 정도도 역시 신장에서 유의하게 높게 나타나 앞선 연구들과 일치하는 것을 알 수 있었으나, 수은 단독투여군의 신장 수은농도가 게르마늄 병용투여군보다 유의하게 높음에도 불구하고 MT 형성 정도에서는 유의한 차이를 나타내지 않아 카드뮴과 게르마늄 사이에서 관찰되는 상호작용과는 상이한 현상을 보였고 또한 본 연구에서 kidney function 연구를 세밀히 관찰하지는 않았지만 게르마늄 병용투여군의 신장 수은농도가 수은 단독투여군에 비해 유의하게 낮아 추후 이와 관련된 수은대사기전 연구가 더욱더 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

Kotsonis와 Klaassen²⁷⁾은 간장 및 신장조직 중의 MT 금속결합능을 측정하여 조직내 중금속 축적과 MT 형성과의 비(ratio)를 구하였고 그 수치가 수평을 이루고 있는 것은 중금속의 체내 축적과 MT 형성이 서로 비례하는 것으로 설명하였고 수치의 기울기가 급할수록 중금속의 체내 축적이 MT 형성능력을 초과하여 조직기능에 심한 손상이 있을 것으로 예측된다고 하였다. 이와 같은 이론을 본 실험의 결과에 적용시켜 볼 때 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군의 간장에서 전구간이 거의 수평을 이루고 있어 카드뮴의 체내 축적 농도와 MT 형성이 서로 비례하고 있음을 알 수 있었다. 그러나 본 실험의 실험기간은 17일간의 짧은 기간이었으므로 게르마늄의 MT 형성 촉진에 의한 카드뮴 독성 저하작용이 17일 이후에도 계속될 것인지는 추후 연구되어야 할 과제이며, 또한 본 실험의 게르마늄 투여는 병용투여에 의한 것이어서 흰쥐의 카드뮴 중독 유발 후 게르마늄의 투여도 역시 카드뮴의 독성을 감소시킬 것인지 규명되어야 할 것이다.

한편 수은 단독투여군의 신장은 MT 금속결합능에 큰 변화를 나타내어 그 독성이 현저하게 나타나리라고 예측되었으나 조직학적 변화에서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다. 이는 MT에 포함되지 않고 남아있는 조직내 수은 농도가 서로 어느 정도의 유사한 병변을

나타내는 독성발현의 dose-response 범위내에 포함 되기 때문인 것으로 생각된다. 결론적으로 게르마늄은 수은과 병용투여되었을 때는 간장과 신장에서 모두 MT 형성을 촉진시키지 못하여 수은에 의한 독성을 감소시키지 못하였다.

결 론

본 연구는 유기게르마늄(GE-132)이 카드뮴 및 수은 중독시 MT 형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시도되었다. 흰쥐를 대상으로 유기게르마늄을 카드뮴 및 수은과 병용투여하여 카드뮴 및 수은 단독투여군과 혈청 transaminase 활성도(SGOT 및 SGPT) 변화를 비교 관찰하고, 신장 및 간장조직 중의 중금속농도, metallothionein 농도 및 metallothionein의 금속결합능 등을 측정, 비교하였으며 또한 각 조직의 병리학적 검경을 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 카드뮴 단독투여군의 SGOT 및 SGPT 활성도 변화는 대조군에 비하여 현저하게 높은 수치의 상승 나타내었으나 게르마늄 병용투여군의 경우는 카드뮴 단독투여군에 비하여 유의한 수치저하를 나타내었다. 그러나 수은 단독투여군과 게르마늄 병용투여군간에는 유의한 차이가 없었다.

2. 카드뮴 단독투여군과 게르마늄 병용투여군의 간장 및 신장조직의 카드뮴 축적농도는 유의한 차이가 없었으나 게르마늄 병용투여군의 간장 중 metallothionein 농도는 카드뮴 단독투여군에 비하여 유의하게 높았다. 그러나 수은 단독투여군과 게르마늄 병용투여군의 간장 및 신장 중의 metallothionein 농도에는 유의한 차이가 없었다.

3. 각 실험군들의 간장 및 신장조직 중의 metallothionein 금속결합능을 구한 결과 정상군과 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군의 간장을 제외하고는 모두 각 기간마다 수치의 변화를 나타내었다.

4. 조직병리학적 검경결과 정상군을 제외한 모든 투여군에서 정도의 차이는 있었으나 간장조직내에는 대체로 간소엽내에 변화가 있었으며 문맥의 변화는 실험후기에 다소 관찰될 뿐 그 정도가 미약하였다. 신장조직의 변화 또한 모든 실험군의 후기에 세관손상과 피사 등의 변화를 관찰할 수 있었으나, 수은투여군을 제외하고는 그 정도가 미약하였다. 카드뮴 및 게르마늄 병용투여군의 간장조직병변은 카드뮴 단독

투여군에 비해 조직의 변화가 기간적으로 늦게 나타났으며 그 변화도 적었다. 그러나 신장의 병변에서는 별다른 차이를 발견하지 못하였고 수은 단독투여군과 수은 및 게르마늄 병용투여군간의 간장 및 신장조직병변 또한, 유사한 소견이었다.

이상의 결과를 종합하면 유기게르마늄은 카드뮴의 간장독성에 대해 metallothionein 형성을 촉진시키므로 카드뮴의 독성을 감소시켰지만, 수은의 독성을 감소시키지 못하였다.

문 헌

- 1) Kowel, N.E., Johnson, D.E., Kaemer, D.F. and Pahren, H.R. : Normal levels of cadmium in diet, urine, blood and tissues of inhabitants of the United States. *J. Toxicol. Environ. Health* **5**, 995(1979).
- 2) Suzuki, K.T. : Induction and degradation of metallothionein and their relation to the toxicity of cadmium. In Foulkes EC(ed) : *Biological roles of metallothionein*. Elsevier, New York, p. 215(1982).
- 3) Porter, M.C., Miya, T.S. and Bousquet, W.F. : Cadmium : Inability to induce hypertension in rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **27**, 692(1974).
- 4) Stowe, H.D., Wilson, M.D. and Goyer, R.A. : Clinical and morphological effects of oral cadmium toxicity in rabbits. *J. Arch. Pathol.* **94**, 389(1972).
- 5) Friberg, L. : Health hazards in the manufacture of alkaline accumulators with special reference to chronic cadmium poisoning. *Acta. Med. Scand.* **138**, 1(1950).
- 6) Friberg, L. and Vostal, J. : *Mercury in the environment-Toxicological and epidemiological appraisal*. Chemical Rubber Co., Cleveland(1972).
- 7) Goldwater, L.J. : *Mercury ; A history of quicksilver*, York Press. Baltimore. p. 270(1972).
- 8) Roman-Franco, A.A., Twirello, M., Abini, B. and Ossi, E. : Antibasement membrane antibodies with antigen antibody complexes in rabbits injected with mercuric chloride. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **9**, 404(1978).
- 9) Trojanowska, B. : *The distribution and excretion of mercury ²⁰³Hg in rats after daily injections of phenyl-mercury acetate*. Proc. XV. Int. Congr. Occup. Health, Vienna. AIII-26, 261(1966).

- 10) Magnaval, J.P., Magnaval, P.F. and Karhausen, L.R. : Mercury in dental office ; a profesional harzard (author's transl). *Rev. Epidemiol. Med. Soc. Saute Publique* **23**, 53(1975).
- 11) Edwards, T. and McBride, B.C. : Biosynthesis and degradation of methylmercury in human faeces. *Nature* **253**, 462(1975).
- 12) Norseth, T. and Clarkson, T.W. : Studies on the biotransformation of ²⁰³Hg-labelled methylmercury chloride in rats. *Arch. Environ. health* **21**, 717 (1970).
- 13) Kumano, N., Nakai, Y., Ishigawa, T., Koinumaru, S., Suzuki, S. and Konno, K. : Effects of carboxyethylgermanium sesquioxide on the methyl cholanthrane-induced tumorigenesis in mice. *Sci. Rep. Res. Inst. Tokoku. Unive.* **25**, 89(1978).
- 14) Satoh, H. and Iwaguchi, T. : Antitumor activity of new novel organogermanium compound, GE-132. *The Cancer and Chemotherapy* **6**, 79(1979).
- 15) Mizushima, Y. and Shyoji, Y. : Immunomodulating effects of germanium. *Egaku no Ayumi.* **114**, 1055 (1980).
- 16) Evans, G.W., Majors, P.F. and Cornatzer, W.E. : Mechamism for cadmium and zinc antagonism of copper metabolism, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **40**, 1142(1970).
- 17) Jakubowski, M., Piotrowski, J.K. and Trojanowska, B. : Binding of mercury in the rat : Studies using ²⁰³HgCl₂ and gel filtration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **16**, 743(1970).
- 18) Cherian, M.G. and Nordberg, M. : Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. *Toxicology* **28**, 1(1983).
- 19) Oh, S.H. and Whanger, P.D. : Biological function of metallothionein VII. Effect of age on its metabolism in rats. *Am. J. Physiol.* **237**, E18(1979).
- 20) Piotrowski, J.K., Trojanowska, B., Wi'sniewska-Knypl, J.M. and Biolanowska, W. : Mercury binding in the kidney and liver of rat repeatedly exposed to mercuric chloride : Induction of metallothionein by mercury and cadmium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **27**, 11(1974).
- 21) Wi'sniewska-Knypl, J.M., Trojanowska, B. and Piotrowski, J.K. : Binding of mercury in rat liver by metallothionein. *Acta. Biochem. Polon.* **19**, 11(1972).
- 22) Parizek, J. : The destructive effect of cadmium ion on testicular tissues and its prevention by zinc. *J. Endocrinol.* **15**, 56(1957).
- 23) Flanagan, P.R. and Mclellan, J. Haist, J., Cherian, M.G., Chamberlain, M.J., Valberg, L.S. : Increased dietary cadmium absorption in mice and human subjects with iron deficiency. *Gastroenterology* **74**, 841(1978).
- 24) Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**, 26(1957).
- 25) Assoc Office Anal Chemists. *Official methods of analysis of the AOAC*, 14th ed(1984).
- 26) Onosaka, S., Tanak, K., Doi, M. and Okahara, K. : A simplified procedure for determination of metallothionein in animal tissues. *Elsei, Kagaku* **24**, 128(1978).
- 27) Kotsonis, F.N. and Klaassen, C.D. : Comparison of methods for estimating hepatic metallothionein in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **42**, 583(1977b).
- 28) Dudley, R.E., Gammal, L.M. and Klaassen, C.D. : Cadmium-induced hepatic and renal injury in chronically exposed rats, Likely role of hepatic cadmium-metallothionein in nephrotoxicity. *Toxiol. Appl. Pharmacol.* **77**, 414(1985).
- 29) Eaton, D.L., Stacey, N.H., Wong, K.L. and Klaassen, C.D. : Dose-response effect of various metal ions on rat liver metallothionein, glutathione, heme oxygenase, and cytochrome P-450. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **55**, 393(1980).
- 30) Schroeder, H.A., Kanisawa, M., Frost, D.V. and Mitchener, M. : Germanium, tin and arsenic in rats : Effects on growth, survival, pathological lesions and life span. *J. Nutrition* **96**, 37(1968).
- 31) Nagata, J.S., Nagata, T.A., Aramaki, Y. and Enomoto, M. : Chronic intravenously toxicity study with carboxyethylgermanium sesquioxide in beagle-dogs. *Pharmacometrics* **16**, 613(1978).
- 32) Merali, Z. and Singhal, R.L. : Prevention by zinc of cadmium-induced alterations in pancreatic and hepatic function. *Br. J. Pharmacol.* **57**, 573(1976).

- 33) Suzuki, K.T. and Yamamura, M. : Changes of metal contents and isometallothionein levels in rat tissues cadmium loading. *Biochemical. Pharmacol.* **29**, 2407(1980).
- 34) Schroeder, H.A. and Balassa, J.J. : Arsenic, germanium, tin and vanadium in mice : Effects on growth, survival and tissue levels. *J. Nutrition* **62**, 245 (1967).
- 35) Oh, S.H., Deagen, J.T. Whanger, P.D. and Weswig, P.H. : Biological function of metallothionein. V. Its induction in rats by various stresses. *Amer. J. Physiol.* **23**, E282(1978).
- 36) Waalkes, M.P., Hjelle, J.J. and Klaassen, C.D. : Transient induction of hepatic metallothionein following oral ethanol administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **54**, 314(1984).