

카드뮴 및 亞鉛 前處理가 흰쥐의 急性카드뮴 中毒 및 Metallothionein生成에 미치는 效果

이재형 · 염정호 · 강현철 · 김남송* · 고대하 · 기노석
전북대학교 의과대학 예방의학교실, *원광대학교 의과대학 예방의학교실

Effects of Cadmium and Zinc Pretreatment on the Acute Cadmium Toxicity and Metallothionein Induction in Rats

Jae Hyung Lee, Jung Ho Youm, Hyon Chul Kang, Nam Song Kim*,
Dai Ha Koh and No Suk Ki

Department of Preventive Medicine and Public Health
Chonbuk National University Medical School,
*Wonkwang University Medical School

ABSTRACT

Tolerance to toxic effects of cadmium(Cd), including lethality has been shown following pretreatment with cadmium and zinc. This study was designed to determine if tolerance also develops to Cd-induced hepatotoxicity and renal toxicity.

Three groups of rats(A, B, C), each consisting of 52 rats, were studied and each group was divided into three subgroups(1, 2, 3), 28 rats for each subgroup.

Rats were subcutaneously pretreated with saline(A), CdCl₂(0.5 mg/kg, B), and ZnCl₂(13.0 mg/kg, C) during time periods of 5 days. At the end of the period, rats were challenged with CdCl₂(3.0 and 6.0 mg/kg) by intraperitoneal injection.

As for the cadmium levels in rat tissues after 1,3,5,6 days of pretreatments, it was highest in the liver. Then kidney, heart, blood and muscle followed it in that order.

After 24, 48 and 96 hours of intraperitoneal injection by challenge doses the concentration of cadmium in liver and kidney increased proportionally to the increase of challenge dosage. However metallothioneins in liver and kidney were increased by the pretreatment of cadmium and zinc. These data indicate the liver is a major target-organ of acute Cd poisoning, and suggest that cadmium induced hepatic injury, via release of Cd-MT, may play an important role in the nephrotoxicity observed in response to short-term exposure to cadmium.

This result suggest that increasing cadmium concentrations, gradually accumulating in liver and kidney as the result of the pretreatment, served to induce the synthesis of metallothionein, thus making them resistant to the challenge from cadmium.

Keywords : Cadmium, zinc, metallothionein

I. 緒 論

카드뮴 중독은 1858년 은제품을 가공하는 공정중 cadmium carbonate(CdCO₃)에 폭로된 근로자들에 게서 직업성중독이 최초로 보고된 이래, 일본 Toyama현에서 발생한 Itai-itai병(1963)과 같이 생태계

오염에 의한 카드뮴중독 사건 등 크고 작은 집단 중독사례가 계속 보고되고 있다(Buell, 1975; Moore와 Ramamoorthy, 1984; Agarwal, 1988; Goyer, 1986; Hamond와 Foulkes, 1986).

카드뮴은 출생시 인체에는 거의 존재하지 않는 유해원소로 알려져 있으며 주로 호흡기와 소화기를

통하여 흡수되는데, 호흡기로 흡입된 카드뮴의 약 40%가, 소화기로 섭취된 카드뮴의 약 5~6%가 체내로 흡수되고 가용성 염의 형태로 체내의 조직이나 장기에 축적되어 건강장애를 일으킨다(Lewis, 1972; Fassett, 1980). 카드뮴은 주기율표상 아연족에 속하며 자연환경내에서 아연과 필연적으로 공존하고 있고 체내에 있어서는 아연, 납, 비소등 일부 중금속의 농도와 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다(Bernard 등, 1976; Stvartengren, 1986).

카드뮴의 독성기전에 대해서는 많은 논란이 제기되고 있는데, 두가지 관점으로 요약될 수 있다(WHO, 1990; Goyer, 1991). 첫째는 카드뮴이 체내의 대사 과정에 참여하는 여러 효소의 활성을 억제함으로써 독성을 유발한다는 것이고, 둘째는 카드뮴이 일차적으로 세포막을 구성하는 단백질 중, 특히 중금속과 친화력이 높은 sulfhydryl(SH)기를 포함하는 단백질과 결합함으로써 독성을 나타낸다는 것인데, SH기는 세포막의 투과성 및 물질이동에 필수적이기 때문에 이와 관련된 세포독성을 일으킨다는 것이다.

한편 아연화합물은 체세포내에 가장 많이 함유되어있는 금속으로 여러 효소들의 구성원소 및 조효소로 알려져 왔으며, 호르몬의 합성, 핵산, 단백질합성, 당대사, 지방대사, 아미노산 및 콜라겐 대사작용에 관여하여 동물의 정상적인 성장, 번식 및 조직 보유와 상처 치유에 관여하고 있다(Hammond와 Foulkes, 1986). 이외에 아연은 유해중금속에 대한 방어작용을 가지고 있는데, 카드뮴 독성에 대한 방어가 대표적이다(Lewis, 1972; Waldron, 1980; 황인담 등, 1987).

일반적으로 아연에 의한 카드뮴 독성억제는 셀레늄과 함께 아연의 항산화작용(antioxidant activity)에 의하며(Schroeder 등, 1970), 항산화작용은 glutathione peroxidase의 활성을 통해 발휘된다는 주장(Ganther, 1971; Rotruck 등, 1973)과 아연이 유해중금속과 직접 결합하여 독성이 적은 화합물을 형성하거나 MT와 같은 저분자 단백질을 생성하여 독성을 경감시킨다는 견해(Sumino 등, 1977; Onosaka 등, 1984)가 있다.

이러한 여러 연구결과를 종합해볼 때, 카드뮴과 아연은 생체조직내 MT 생성을 유도하고, 생성된 MT는 조직손상을 완화시키는 생체 방어기전의 하나로 작용할 수 있다고 판단된다.

이에 본 연구에서는 인위적으로 카드뮴과 아연을 투여받은 실험동물에서 조직내 축적되는 카드뮴 및 MT 농도와 경시적인 독성학적 반응간에 밀접한 상관성이 존재하고 중금속의 유도물질인 MT가 카

드뮴독성에 관계한다는 가설하에 투여농도에 따라 실험동물의 장기별 카드뮴 축적과 MT의 농도를 측정하고, 이들 상호간의 관계를 밝힘으로써 카드뮴중독의 기전 및 독성발현의 실험적 기준을 정하는데 일조가 되고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

생후 6~7주된 체중 220 g 내외의 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷만을 실험동물로 사용하였고, 실험 시작 2주 전부터 온도는 20~25°C, 습도는 40~60%의 적정상상태의 사육장에서 사육하였다. 실험동물에 제공된 물은 물리화학적 성상이 실험 식용수로써 음용수 수질기준(WHO, 1990)에 적합한 지하수를 사용하였고, 일반시판용 동물사료(펠렛사료, 제일사료 주식회사)를 자유로이 섭취할 수 있도록 하면서 환경에 적응시켰다.

실험에 사용한 중금속은 cadmium chloride(CdCl₂, Sigma Chemical Co.) 및 zinc chloride(ZnCl₂, Sigma Chemical Co.)로서 모두 생리식염수에 용해시켜 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험동물구분 및 약제투여

대조군(A)과 2개의 실험군(B, C)으로 구분하였으며, 각 군은 다시 3개의 소군(1, 2, 3)으로 구분하여

Table 1. The experimental schedule of cadmium toxicity test in rat tissues by different pretreatment

| Treatment time | Group A | Group B | Group C |
|----------------|---|---|---|
| 1st-5th day* | P/S | Cd 0.5 | Zn 13.0 |
| 7st day** | P/S (A ₁) Cd 3.0 (A ₂) Cd 6.0 (A ₃) | P/S (B ₁) Cd 3.0 (B ₂) Cd 6.0 (B ₃) | P/S (C ₁) Cd 3.0 (C ₂) Cd 6.0 (C ₃) |

The unit of dosage is mg/kg. P/S means physiological saline. Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days. Group B: Pretreated with CdCl₂(0.5 mg/kg) by same method as group A. Group C: Pretreated with ZnCl₂(13.0 mg/kg) by same method as group A. Subgroups, which are denoted by the subscribing numbers as A₁ to C₃, were divided by the challenge dosages of cadmium chloride. *pretreatment by daily subcutaneous injection for 5 days. **challenge treatment by an intraperitoneal injection of different dosages of CdCl₂ or physiological saline.

1개 소군마다 28마리씩의 쥐를 배정하였다. 5일간의 전처리 과정에서 대조군(A)은 생리식염수 0.2 ml/만을, 실험군 B는 CdCl₂ 0.5 mg/kg을, 실험군 C는 ZnCl₂ 13.0 mg/kg의 용량으로 각각 1일 1회 피하 주사하였다(Table 1).

본 처리로는 전처리로부터 48시간이 경과한 후, 각각의 실험군과 대조군의 제 1소군에는 생리식염수만을, 제 2, 3소군에는 CdCl₂을 각각 3.0 mg/kg, 6.0 mg/kg의 농도로 복강내 주사하였다. 카드뮴과 아연의 전처리 투여량은 예비실험 및 Eaton과 Toal (1982)의 방법을 참고로 하여 각 조직내 세포학적 독성을 유발하지 않으며 중금속 축적량과 MT 생산량을 관찰하기에 적합한 농도였으며, 고농도 카드뮴의 복강투여 용량은 48 hour-LD₅₀(50% lethal dose: 9.0 mg CdCl₂/kg, 김정현 등, 1992)의 1/3 및 2/3에 해당하는 농도로 하였다.

2) 실험동물의 처치 및 장기적출

5일간의 전처리 과정에서 각 장기에 축적되거나 생성되는 카드뮴, 아연 및 MT의 농도를 알아보기 위하여 1일째와 3일째 투여가 끝난 24시간 후와 5일째 전처리 과정이 완전히 끝난 다음 24시간 및 48시간 후에 각각의 군에서 4마리씩 경부탈구로서 희생시켜 즉시 개복한 다음 심장 대동맥에서 3~4 ml의 혈액을 채취하였으며, 이어 간장, 신장, 심장 및 근육을 적출하여 실험에 사용하였다.

한편 본처리로서 카드뮴 3.0 mg/kg, 6.0 mg/kg 복강내 주입한 후 24시간, 48시간 및 96시간이 경과한 다음 각 소군당 4마리씩 1회 총 36마리를 경부탈구로써 희생시키고 간장과 신장을 적출하여 카드뮴 축적정도와 MT 농도측정에 사용하였다.

MT 농도의 측정에 사용될 hemolysate는 실험과 무관한 흰쥐를 복강절개하여 심장천자에 의해 채취한 혈액으로 제조하였다.

3) 조직내 중금속 농도측정

혈액 및 조직내 총 카드뮴량을 정량하기 위해 혈액은 황인담 등(1987)의 방법으로, 간장, 신장, 심장 및 근육은 Fuwa(1964)의 방법을 일부 수정하여 전처리하였다. 즉, 적출한 조직중 혈액은 3~5 ml 정도, 심장은 0.5 g, 간장, 신장 및 근육은 1g을 취하여 생리식염수로 세척한 후, 통상의 수기에 의한 질산-황산-과염소산분해법에 따라 가열, 분해시켰다. 유기물 분해 후 DDTC-MIBK를 사용하여 chelate 화합물을 유출하였고 0.1 N HCl를 가한 최종시료 5.0 ml를 측정용 시료로 사용하였다. 사용한 시약은 유해금속측정용과 원자흡광분석용이며, 측정은 원자 흡수분광광도계(atomic absorption spectrophotome-

ter, IL551 U.S.A.), 가스는 air-acetylene이었다.

4) 조직내 MT 농도측정

MT 농도측정은 Onosaka등(1978)의 방법과 Eaton과 Toal(1982)의 Cd-hemoglobin affinity법을 참고하여 다음과 같이 실시하였다.

적출한 간조직 1g과 신장조직 0.5g을 생리식염수로 세척한 후, 자당용액(sucrose)을 가하면서 homogenizer를 이용하여 균질화하고, 18,000 G, 4°C에서 20분간 원심분리하여 상층의 세포액(cytosol)을 얻었다. 세포액 0.2 ml에 0.03 M Tris-HCl(pH 8.0)를 첨가하여 2.4 ml이 되게 한 다음, 10 ppm의 CdCl₂ (standard solution) 1 ml로 포화시키고 실온에서 5분간 정치하였다. 여기에 RBC hemolysate 0.2 ml를 가하여 과량의 카드뮴과 MT 이외의 모든 bioligand를 제거하고, 100°C water bath에 1분간 정치시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 5분간 원심분리(1,000 G)하여 상층액을 취하였다.

이상과 같은 hemolysate 첨가, 열처리 및 원심분리과정을 3회 반복하여 얻은 시료를 측정에 이용하였다.

5) 자료정리 및 분석

실험결과 얻은 각 흰쥐의 전처치에 의한 장기내 중금속 및 MT 측정결과는 one-way ANOVA를 사용하였고, 복강투여에 의한 장기내 카드뮴 및 MT 측정결과는 two-way nested ANOVA를 사용하였다. 이상 자료의 통계처리는 개인컴퓨터용 SAS를 이용하였다.

III. 실험 결과

1. 개체 사망수

생리식염수로 전처리한 후, 본처리로 2일째 6.0 mg/kg의 카드뮴을 투여받은 군(A₀)은 12마리 중 3마리가 48시간 이내에 사망하였고, 아연 전처리 후, 본처리로 2일째 6.0 mg/kg의 카드뮴을 투여받은 군(C₀)에서는 12마리 중 1마리가 48시간 이내에 사망하였다. 카드뮴 전처리군에서는 사망개체가 없었다. 사망한 개체는 실험에 사용하지 않았으나 부속한 실험동물은 같은 투여방법으로 카드뮴을 투여하여 보충하였다.

2. 전처치에 의한 조직중 중금속농도

전처치로 생리식염수(A군), 카드뮴(B군) 및 아연(C군)은 1일 및 3일째 피하주사한 후의 각 조직내 카드뮴 농도는 간장이 가장 높고 신장, 심장순이었고 혈액과 근육은 낮게 나타났다. 특히 1일째 피하주사

Table 2. Cadmium, zinc and metallothionein levels in rat tissues after 24 hours of pretreatment by daily subcutaneous injection for 1 day

| Tissue | Metal | Group A | Group B | Group C |
|--------|-------|-------------------------|-------------|-------------|
| Blood | Cd | <0.01 | 0.04± 0.01 | <0.01 |
| | Zn | 4.21± 0.82 ^a | 4.18± 0.83 | 4.65± 0.69 |
| | MT | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Heart | Cd | 0.01± 0.01 | 0.08± 0.03 | 0.01± 0.01 |
| | Zn | 10.65± 2.71 | 12.63± 2.48 | 15.44± 2.03 |
| | MT | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Kidney | Cd | 0.20± 0.02 | 1.73± 0.33 | 0.16± 0.02 |
| | Zn | 24.25± 3.08 | 26.57± 2.52 | 28.70± 3.15 |
| | MT | 0.01± 0.01 | 0.08± 0.03 | 0.02± 0.02 |
| Liver | Cd | 0.17± 0.04 | 2.92± 0.41* | 0.18± 0.04 |
| | Zn | 26.23± 1.40 | 23.52± 4.28 | 35.88± 2.79 |
| | MT | 0.02± 0.01 | 0.18± 0.11 | 0.05± 0.02 |
| Muscle | Cd | <0.01 | 0.01± 0.02 | 0.01± 0.01 |
| | Zn | 17.65± 2.53 | 19.04± 3.25 | 18.77± 1.73 |
| | MT | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

^a Values represent Mean± S.D. Contents are expressed as µg/g wet weight except for blood(µg/ml). * P<0.05, (comparison with group A and C). Detection limit is 0.01 (µg/ml). Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days. Group B: Pretreated with CdCl₂(0.5 mg/kg) by same method as group A. Group C: Pretreated with ZnCl₂(13.0 mg/kg) by same method as group A.

Table 3. Cadmium, zinc and metallothionein levels in rat tissues after 24 hours of pretreatment by daily subcutaneous injection for 3 days

| Tissue | Metal | Group A | Group B | Group C |
|--------|-------|-------------------------|-------------|-------------|
| Blood | Cd | <0.01 | 0.05± 0.01 | <0.01 |
| | Zn | 4.08± 0.45 ^a | 4.75± 0.39 | 5.12± 0.52 |
| | MT | <0.01 | 0.01<0.01 | <0.01 |
| Heart | Cd | ± 0.01 | 0.47± 0.09 | 0.02± 0.01 |
| | Zn | 11.82± 1.93 | 14.55± 2.16 | 18.25± 1.63 |
| | MT | <0.01 | 0.01<0.01 | 0.01± 0.01 |
| Kidney | Cd | 0.32± 0.04 | 3.81± 0.43* | 0.84± 0.13 |
| | Zn | 24.13± 2.18 | 31.48± 2.71 | 32.90± 0.87 |
| | MT | 0.01± 0.01 | 0.20± 0.05 | 0.11± 0.02 |
| Liver | Cd | 0.20± 0.03 | 7.36± 1.05* | 1.66± 0.25 |
| | Zn | 24.77± 0.98 | 32.08± 1.26 | 42.43± 2.04 |
| | MT | 0.03± 0.01 | 1.21± 0.09 | 0.43± 0.08 |
| Muscle | Cd | <0.01 | 0.01± 0.01 | 0.01± 0.01 |
| | Zn | 15.49± 1.53 | 18.62± 1.74 | 19.35± 2.52 |
| | MT | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

^a Values represent Mean± S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/g wet weight except for blood(µg/ml). * P<0.05, (comparison with group A and C). Detection limit is 0.01 (µg/ml). Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days. Group B: Pretreated with CdCl₂(0.5 mg/kg) by same method as group A. Group C: Pretreated with ZnCl₂(13.0 mg/Kg) by same method as group A.

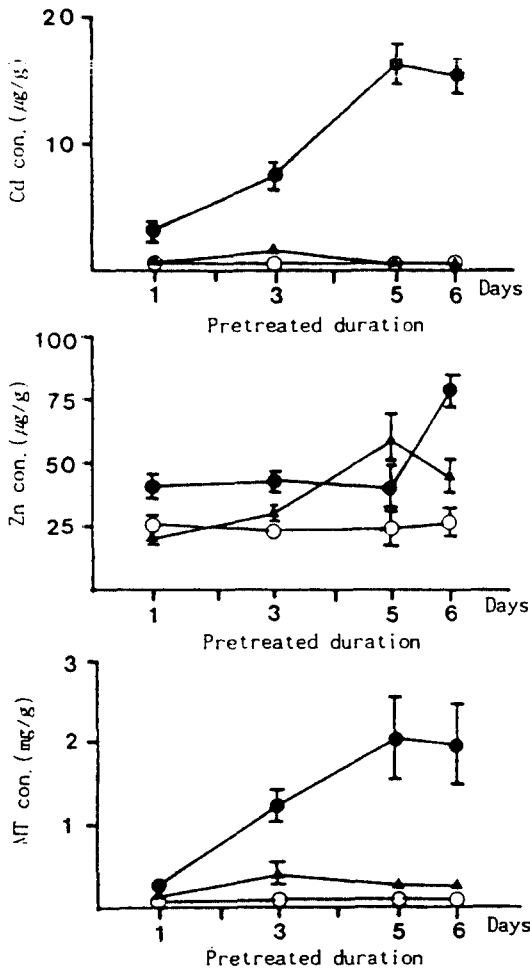


Fig. 1. Cadmium, zinc and metallothionein levels in rat liver after short-term subcutaneous pretreatment.
 Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days.
 Group B: Pretreated with CdCl₂(0.5 mg/kg) by the same method as group A. Group C: Pretreated with ZnCl₂(13.0 mg/kg) by the same method as group A.
 ○ Group A, ▲ Group B and ● Group C).

후 B군의 간장에서 2.92 µg/g, 3일째에는 B군의 신장과 간장에서 각각 3.81 µg/g, 7.36 µg/g으로 A군이나 C군의 같은 조직내 농도에 비해 높게 나타났다 (Tables 2 and 3, Figs. 1 and 2).

한편 3일째 전처치 후의 각 실험군간 카드뮴 농도차는 근육을 제외한 모든 장기에서 통계학적으로 유의하게 나타났다(p<0.01).

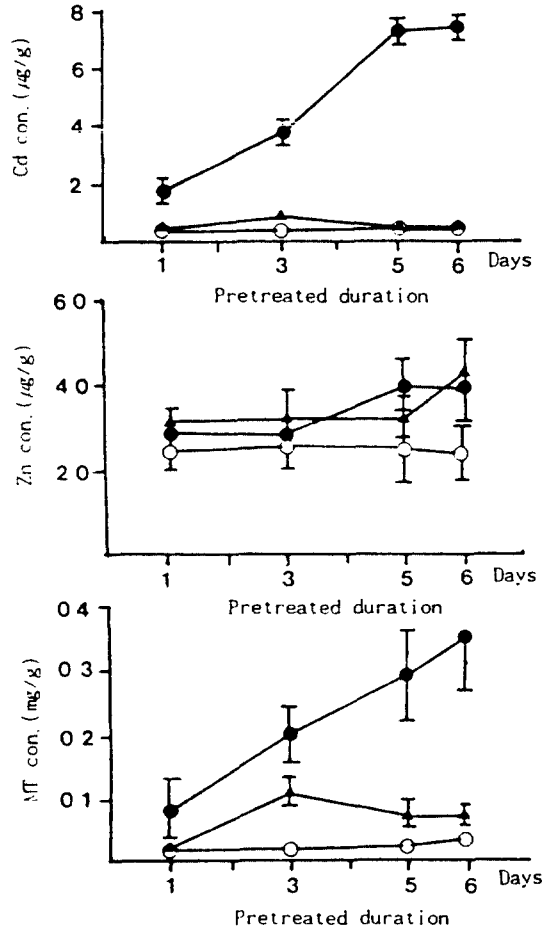


Fig. 2. Cadmium, zinc and metallothionein levels in rat liver after short-term subcutaneous pretreatment.
 Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days.
 Group B: Pretreated with CdCl₂(0.5 mg/kg) by the same method as group A. Group C: Pretreated with ZnCl₂(13.0 mg/kg) by the same method as group A.
 ○ Group A, ▲ Group B and ● Group C).

아연농도는 A군과 B군의 경우 신장과 간장이 비슷한 농도를 보였으며 근육, 심장, 혈액 순이었으나 C군의 경우에는 간장이 가장 높았고 신장, 근육, 심장, 혈액순으로 낮아졌다.

3일째 전처치 후, 각 조직에서 나타난 아연 농도차는 근육을 제외하고는 각 장기 모두 통계학적으로 유의하였다(p<0.01).

1일 전처치 후 MT 생성은 간장에서 생리식염수

Table 4. Cadmium, zinc and metallothionein levels in rat tissues after 24 hours of pretreatment by daily subcutaneous injection for 5 days

| Tissue | Metal | Group A | Group B | Group C |
|--------|-------|-------------------------|--------------------------|-------------|
| Blood | Cd | <0.01 | 0.05± 0.02 | <0.01 |
| | Zn | 4.56± 1.08 ^a | 4.71± 0.53 | 5.03± 0.62 |
| | MT | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Heart | Cd | 0.01± 0.01 | 0.78± 0.08* | 0.03± 0.02 |
| | Zn | 10.83± 3.21 | 15.27± 2.20 | 18.91± 2.72 |
| | MT | <0.01 | 0.03<0.01 | <0.01 |
| Kidney | Cd | 0.31± 0.05 | 7.28± 0.51* | 0.31± 0.09 |
| | Zn | 25.98± 3.21 | 39.82± 2.15 | 31.88± 3.34 |
| | MT | 0.03± 0.01 | 0.29± 0.07* | 0.07± 0.03 |
| Liver | Cd | 0.18± 0.03 | 16.34± 1.26** | 0.40± 0.11 |
| | Zn | 25.82± 4.03 | 58.29± 7.22 [‡] | 37.28± 6.27 |
| | MT | 0.04± 0.01 | 2.03± 0.51* | 0.25± 0.10 |
| Muscle | Cd | <0.01 | 0.04± 0.01 | 0.01± 0.01 |
| | Zn | 14.18± 2.15 | 20.08± 3.11 | 21.22± 3.4 |
| | MT | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

^a Values represent Mean±S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/g wet weight except for blood(µg/ml). *P<0.05, **: P<0.01(comparison with group A and C). [‡] P<0.05 (comparison with group A). Detection limit is 0.01 (µg/ml). Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days. Group B: Pretreated with CdCl₂(0.5 mg/kg) by same method as group A. Group C: Pretreated with ZnCl₂(13.0 mg/kg) by same method as group A.

Table 5. Cadmium, zinc and metallothionein levels in rat tissues after 48 hours of pretreatment by daily subcutaneous injection for 5 days

| Tissue | Metal | Group A | Group B | Group C |
|--------|-------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Blood | Cd | 0.01± 0.01 ^a | 0.08± 0.02* | 0.01± 0.01 |
| | Zn | 4.82± 1.41 | 5.38± 0.48 | 5.98± 0.26 |
| | MT | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| Heart | Cd | 0.02± 0.01 | 0.75± 0.05* | 0.03± 0.02 |
| | Zn | 12.42± 2.31 | 16.43± 1/62 | 18.25± 2.11 |
| | MT | <0.01 | 0.03<0.01 | <0.01 |
| Kidney | Cd | 0.28± 0.04 | 7.42± 0.69** | 0.03± 0.15 |
| | Zn | 24.07± 3.54 | 39.81± 3.54 | 43.88± 3.47 |
| | MT | 0.04± 0.01 | 0.06± 0.08* | 0.06± 0.03 |
| Liver | Cd | 0.17± 0.03 | 15.18± 1.19** | 0.39± 0.11 |
| | Zn | 26.69± 2.83 | 43.63± 3.71 [‡] | 85.06± 6.95 ^{‡‡} |
| | MT | 0.04± 0.01 | 1.92± 0.45** | 0.17± 0.05 |
| Muscle | Cd | <0.01 | 0.05± 0.01 | 0.01± 0.01 |
| | Zn | 18.20± 2.48 | 21.49± 2.26 | 19.33± 1.14 |
| | MT | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

^a Values represent Mean±S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/g wet weight except for blood(µg/ml). *P<0.05, **P<0.01 (comparison with group A and C). [‡] P<0.05, ^{‡‡} P<0.01 (comparison with group A). Detection limit is 0.01 (µg/ml). Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days. Group B: Pretreated with CdCl₂(0.5 mg/kg) by same method as group A. Group C: Pretreated with ZnCl₂(13.0 mg/kg) by same method as group A.

전처치군(A) 0.02 mg/g, 카드뮴 전처치군(B) 0.18 mg/g 및 아연 전처치군(C) 0.05 mg/g이었고, 신장에서는 생리식염수 전처치군(A) 0.01 mg/g, 카드뮴 전처치군(B) 0.08 mg/g 및 아연 전처치군(C) 0.02 mg/g으로 나타났다. 전처치군간의 MT 생성차는 간장 및 신장 두 장기에서만 통계학적으로 유의하였다(Tables 2 and 3, Fig. 1 and 2).

5일간 전처치한 후 24시간 및 48시간째 각 조직의 카드뮴농도는 생리식염수 투여군(A)의 경우, 신장이 가장 높고 간장, 심장, 혈액, 근육 순이었다. 특히 실험군중 카드뮴 전처치군(B)에서의 각 조직내 카드뮴농도는 A군이나 C군의 농도에 비해 유의하게 높았다(Tables 4 and 5).

또한 전처치 후 24시간 및 48시간째 아연농도는 A군의 경우 신장과 간장이 높았고, 근육, 심장, 혈액 순이었으나 B 및 C군에서는 간장, 신장, 근육, 심장, 혈액 순으로 낮아졌다.

MT 생성은 5일간 전처치 후 48시간째 간장에서 생리식염수 전처치군(A) 0.04 mg/g, 카드뮴 전처치군(B) 1.92 mg/g 및 아연 전처치군(C) 0.17 mg/g이었고 신장에서는 생리식염수 전처치군(A) 0.04 mg/g, 카드뮴 전처치군(B) 0.36 mg/g 및 아연 전처치군(C) 0.06 mg/g으로 나타났다. 전처치군간의 MT생성차는 간장 및 신장 두 장기에서만 통계학적으로 유의하게

나타났다(p<0.01). 이와 같이 MT 생성은 피하주사 기간동안 간장과 신장에서만 다른 조직에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였다(Tables 4 and 5).

3. 조직내 카드뮴과 MT농도

1) 간장내 농도

전처치가 간장내 MT 농도에 미치는 영향을 Nested 분산분석법에 의해 실행한 결과, 24시간째 F=4.90(p>0.05), 48시간째 F=2.31(p>0.05), 96시간째 F=2.33(p>0.05) 및 1주째 F=0.88(p>0.05)로써 통계학적인 유의성은 나타나지 않았다. 전처치 후 복강투여가 조직내 MT농도에 미치는 영향은 조직중 카드뮴농도와 마찬가지로 24시간째 F=75.66(p<0.01), 48시간째 F=24.99(p<0.01), 96시간째 F=22.34(p<0.01) 및 1주째 F=8.66(p<0.01)로써 공히 통계학적으로 유의성이 나타났다(Tables 6, 7, 8 and 9).

전처치 후 생리식염수만을 복강투여받은 각 군내 제 1소군(A₁B₁C₁)의 24시간째 카드뮴 농도는 각각 0.22±0.02 µg/g, 12.78±1.42 µg/g, 0.50±0.11 µg/g이었고, 48시간째 농도는 0.34±0.05 µg/g, 15.38±0.95 µg/g, 0.61±0.66 µg/g, 96시간째 농도는 0.26±0.08 µg/g, 17.82±2.06 µg/g, 0.69±0.15 µg/g, 1주째 농도는 0.24±0.05 µg/g, 14.25±1/2.43 µg/g, 0.42±

Table 6. Cadmium and metallothionein levels of liver and kidney in the rat after 24 hours of intraperitoneal injection by challenge dosages of CdCl₂

| Tissue | Cd/MT | Group A | | | Group B | | | Group C | | | F value | |
|--------|-----------|-----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------|--------|
| | | A ₁ | A ₂ | A ₃ | B ₁ | B ₂ | B ₃ | C ₁ | C ₂ | C ₃ | pretreat. | i.p. |
| Liver | Cd (µg/g) | 0.22 ^a ± 0.02 | 13.87 ± 3.15 | 24.69 ± 6.03 | 12.78 ± 1.07 | 46.68 ± 3.05 | 57.83 ± 5.09 | 0.50 ± 0.11 | 20.39 ± 2.70 | 44.30 ± 4.36 | 1.18 | 94.82* |
| | MT (mg/g) | 0.10 ± 0.01 | 0.34 ± 0.04 | 0.37 ± 0.11 | 1.42 ± 0.24 | 3.64 ± 0.29 | 4.92 ± 0.56 | 0.20 ± 0.03 | 0.91 ± 0.24 | 2.45 ± 0.57 | 4.22 | 45.61* |
| Kidney | Cd (µg/g) | 0.25 ± 0.02 | 2.92 ± 3.13 | 11.07 ± 2.84 | 4.33 ± 0.12 | 16.12 ± 3.37 | 16.34 ± 3.72 | 0.29 ± 0.12 | 6.15 ± 0.27 | 12.18 ± 0.74 | 1.21 | 15.41* |
| | MT (mg/g) | 0.06 ± 0.01 | 0.08 ± 0.02 | 0.15 ± 0.04 | 0.10 ± 0.02 | 0.73 ± 0.09 | 0.86 ± 0.13 | 0.07 ± 0.01 | 0.14 ± 0.03 | 0.19 ± 0.06 | 1.22 | 3.13 |

^a Values represent Mean±S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/wet weight g. * P<0.01 by two-way nested ANOVA. Pretreatments of group A, B, C were same as in Table 2. Subgroup 1 was given of physiological saline by intraperitoneal injection. Subgroups 2 and 3 were given challenge doses of 3.0 and 6.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively. Detection limit is 0.01(µg/ml).

Table 7. Cadmium and metallothionein levels of liver and kidney in the rat after 48 hours of intraperitoneal injection by challenge dosages of CdCl₂

| Tissue | Cd/MT | Group A | | | Group B | | | Group C | | | F value | |
|--------|--------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------|
| | | A ₁ | A ₂ | A ₃ | B ₁ | B ₂ | B ₃ | C ₁ | C ₂ | C ₃ | pretreat. | i.p. |
| Liver | Cd (µg/g) | 0.34 ^a ± 0.05 | 12.54 ± 1.03 | 22.72 ± 3.48 | 15.38 ± 1.57 | 43.01 ± 4.22 | 62.10 ± 5.25 | 0.61 ± 0.13 | 14.20 ± 1.03 | 26.59 ± 4.88 | 1.34 | 36.63* |
| | MT (mg/g) | 0.09 ± 0.01 | 0.43 ± 0.06 | 0.76 ± 0.19 | 0.95 ± 0.27 | 2.46 ± 0.53 | 3.82 ± 0.58 | 0.66 ± 0.09 | 2.53 ± 0.31 | 2.72 ± 0.17 | 2.31 | 28.99* |
| Kidney | Cd (µg/g) | 0.31 ± 0.05 | 9.81 ± 1.03 | 11.27 ± 3.48 | 5.26 ± 1.57 | 14.25 ± 4.22 | 27.93 ± 5.25 | 0.63 ± 0.13 | 7.76 ± 1.03 | 10.03 ± 4.88 | 0.85 | 23.86* |
| | MT (mg/g) | 0.04 ± 0.01 | 0.10 ± 0.02 | 0.31 ± 0.08 | 0.18 ± 0.04 | 0.34 ± 0.05 | 0.82 ± 0.17 | 0.11 ± 0.02 | 0.28 ± 0.12 | 0.42 ± 0.20 | 1.30 | 16.71* |

^a Values represent Mean± S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/wet weight g. * p<0.01 by two-way nested ANOVA. Pretreatments of groups A,B,C were same as in Table 2. Subgroup 1 was given of physiological saline by intraperitoneal injection. Subgroups 2 and 3 were given challenge doses of 3.0 and 6.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively. Detection limit is 0.01 (µg/ml).

Table 8. Cadmium and metallothionein levels of liver and kidney in the rat after 96 hours of intraperitoneal injection by challenge dosages of CdCl₂

| Tissue | Cd/MT | Group A | | | Group B | | | Group C | | | F value | |
|--------|--------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------|
| | | A ₁ | A ₂ | A ₃ | B ₁ | B ₂ | B ₃ | C ₁ | C ₂ | C ₃ | pretreat. | i.p. |
| Liver | Cd (µg/g) | 0.26 ^a ± 0.08 | 13.45 ± 1.82 | 23.38 ± 3.72 | 17.82 ± 2.06 | 46.68 ± 5.31 | 58.29 ± 6.28 | 0.69 ± 0.15 | 10.22 ± 2.18 | 30.21 ± 3.76 | 3.00 | 57.34* |
| | MT (mg/g) | 0.05 ± 0.01 | 0.28 ± 0.07 | 0.35 ± 0.12 | 0.23 ± 0.10 | 1.87 ± 0.38 | 2.26 ± 0.44 | 0.07 ± 0.03 | 1.08 ± 0.18 | 0.79 ± 0.21 | 2.33 | 22.34* |
| Kidney | Cd (µg/g) | 0.27 ± 0.05 | 12.43 ± 1.51 | 22.76 ± 4.30 | 7.55 ± 1.83 | 20.06 ± 2.15 | 34.72 ± 3.18 | 0.38 ± 0.12 | 8.56 ± 1.25 | 18.27 ± 2.05 | 0.88 | 60.43* |
| | MT (mg/g) | 0.02 ± 0.01 | 0.09 ± 0.02 | 0.14 ± 0.05 | 0.16 ± 0.03 | 0.27 ± 0.08 | 0.51 ± 0.16 | 0.05 ± 0.02 | 0.15 ± 0.03 | 0.20 ± 0.03 | 1.16 | 19.97* |

^a Values represent Mean± S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/wet weight g. * P<0.01 by two-way nested ANOVA. Pretreatments of groups A,B,C were same as in Table 2. Subgroup 1 was given of physiological saline by intraperitoneal injection. Subgroups 2 and 3 were given challenge doses of 3.0 and 6.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively. Detection limit is 0.01(µg/ml).

0.13 µg/g이었으며, 카드뮴 농도의 증가에 따라 제 2, 3 소군의 농도는 24시간, 48시간, 96시간 및 1주째 공히 용량대 반응의 지속적인 증가를 보였다(Tables

6, 7, 8 and 9). 특히 카드뮴으로 전처치한 B군의 각 소군 농도는 A군에 비해 현저하게 높았으며(p<0.01), C군의 24시간째 각 소군농도 역시 A군의 소

Table 9. Cadmium and metallothionein levels of liver and kidney in the rat after 1 week of intraperitoneal injection by challenge dosages of CdCl₂

| Tissue | Cd/MT | Group A | | | Group B | | | Group C | | | F value | |
|--------|--------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------|--------|
| | | A ₁ | A ₂ | A ₃ | B ₁ | B ₂ | B ₃ | C ₁ | C ₂ | C ₃ | pretreat. | i.p. |
| Liver | Cd (µg/g) | 0.24 ^a | 15.22 | 25.32 | 14.25 | 43.78 | 61.58 | 0.42 | 14.73 | 25.82 | 2.43 | 84.87* |
| | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | |
| | | 0.05 | 1.84 | 2.07 | 2.43 | 4.24 | 4.59 | 0.13 | 2.46 | 3.65 | | |
| | MT (mg/g) | 0.05 | 0.11 | 0.16 | 0.08 | 0.22 | 0.30 | 0.05 | 0.14 | 0.19 | 0.88 | 8.66 |
| | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | | |
| | | 0.02 | 0.04 | 0.14 | 0.01 | 0.07 | 0.10 | 0.01 | 0.03 | 0.05 | | |
| Kidney | Cd (µg/g) | 0.20 | 11.24 | 16.22 | 12.16 | 21.25 | 38.40 | 0.39 | 12.61 | 18.21 | 1.87 | 46.74* |
| | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | |
| | | 0.11 | 2.01 | 2.43 | 2.05 | 2.63 | 3.48 | 0.07 | 2.27 | 1.43 | | |
| | MT (mg/g) | 0.02 | 0.06 | 0.08 | 0.04 | 0.14 | 0.21 | 0.03 | 0.07 | 0.08 | 1.77 | 6.46* |
| | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | | |
| | | 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.02 | 0.06 | 0.06 | 0.01 | 0.02 | 0.05 | | |

^a Values represent Mean±S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/wet weight g. * p<0.01 by two-way nested ANOVA. Pretreatments of groups A, B, C were same as in Table 2. Subgroup 1 was given of physiological saline by intraperitoneal injection. Subgroups 2 and 3 were given challenge doses of 3.0 and 6.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively. Detection limit is 0.01(µg/ml).

군보다 높았다(p<0.05).

MT의 경우 각군내 제 1소군(A₁B₁C₁)의 24시간째 MT농도는 각각 0.10±0.01 mg/g, 1.41±0.24 mg/g, 0.20±0.03 mg/g이었고, 48시간째 농도는 0.09±0.01 mg/g, 0.95±0.27 mg/g, 0.66±0.09 mg/g, 96시간째 농도는 0.05±0.01 mg/g, 0.23±0.10 mg/g, 0.07±0.03 mg/g, 1주째 농도는 0.05±0.02mg/g, 0.08±0.01 mg/g, 0.05±0.01 mg/g이었다. 카드뮴투여농도에 따라 24시간, 48시간의 B군은 지속적인 증가를 보였고 C군은 24시간째에는 증가되었지만 C₂와 C₃ 48시간째 이후 농도는 오히려 감소하는 경향이거나 비슷한 수준이었다.

특히 24시간, 48시간 96시간째의 B군의 각 소군 농도는 A군의 각 소군 농도에 비하여, C군의 3소군은 A군의 3소군에 비하여 24시간째에 매우 높았으며(p<0.001) 1주 후에는 B군의 각 소군 농도가 A군과 C군의 각 소군농도보다 약간 높았으며 통계적으로도 유의하였다(p<0.01, Table 9).

2) 신장내 농도

전처치가 신장내 MT농도에 미치는 영향을 Nested 분산분석법에 의해 실행한 결과, 24시간째 F=1.810(p>0.05), 48시간째 F=1.30(p>0.05), 96시간째 F=1.61(p>0.05) 및 1주째 F=1.77(p>0.05)로써 통계학적인 유의성은 나타나지 않았다. 전처치 후 복강투여가 신장내 MT농도에 미치는 영향은 조직중

카드뮴농도와 마찬가지로 24시간째 F=3.06(p>0.05), 48시간째 F=16.71(p<0.01), 96시간째 F=19.97(p<0.01) 및 1주째 F=6.46(p<0.01)로써 24시간째를 제외하고는 통계학적으로 유의성이 나타났다.

카드뮴의 경우, 각 군의 제 1소군(A₁, B₁, C₁) 농도는 24시간째에 0.25±0.02 µg/g, 4.33±0.12 µg/g, 0.29±0.12 µg/g이었고, 48시간째 농도는 0.4±0.01 µg/g, 0.18±0.04 µg/g, 0.11±0.02 µg/g, 96시간째 농도는 0.02±0.01 µg/g, 0.06±0.03 µg/g, 0.05±0.02 µg/g, 1주째 농도는 0.02±0.01 µg/g, 0.04±0.02 µg/g, 0.03±0.01 µg/g이었으며, 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 제 2,3군의 농도는 24시간, 48시간, 96시간 및 1주째에 공히 각군의 1소군(A₁, B₁, C₁)에 비하여 증가하는 경향을 보였다(Tables 6, 7, 8 and 9).

각 군간의 농도 차이는 24시간째 B군의 1,2소군은 A군과 C군의 1,2소군에 비하여, 48시간 및 96시간째 B군의 1,2,3소군은 A군과 C군의 1,2,3소군에 비하여 높은 농도를 보였으며(P<0.05), 1주째 B군의 1,3소군도 A군과 C군의 1,3소군에 비하여 높은 농도를 나타냈다(P<0.05).

MT의 경우, 각 군의 각군의 제 1소군 농도는 24시간째에 0.06±0.01 mg/g, 0.10±0.02 mg/g, 0.07±0.01 mg/g이었고, 48시간째 농도는 0.09±0.01 mg/g,

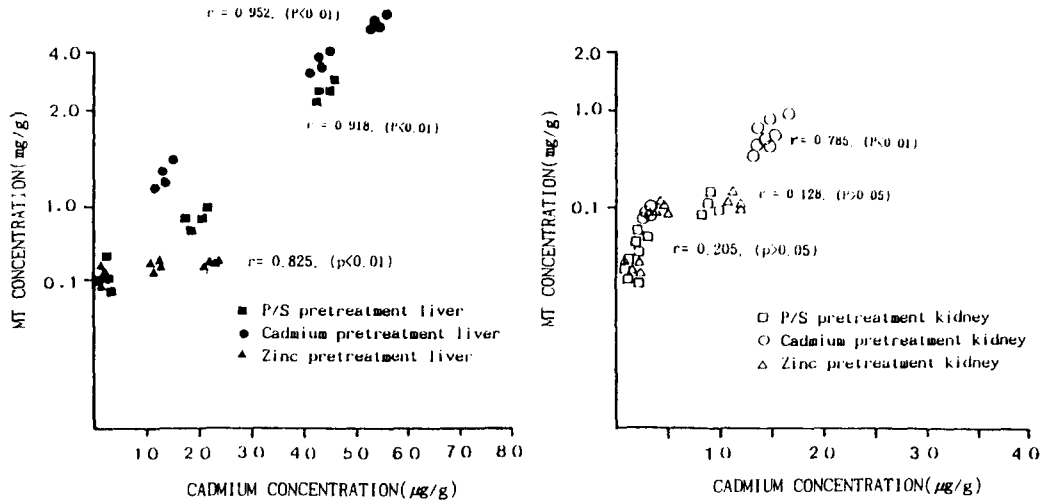


Fig. 3. Relationship between cadmium and MT in liver and kidney of rats at 24 hours given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl₂ after short-term subcutaneous pretreatment.

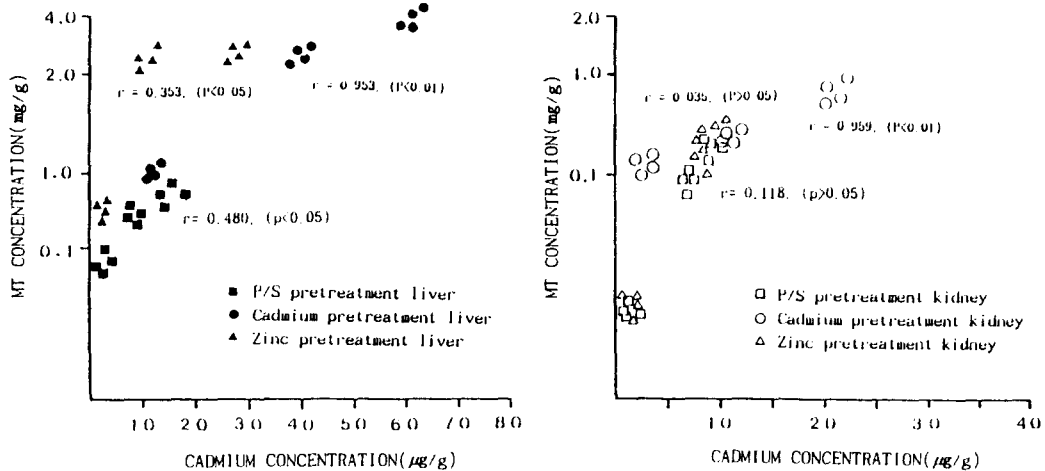


Fig. 4. Relationship between cadmium and MT in liver and kidney of rats at 48 hours given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl₂ after short-term subcutaneous pretreatment.

0.95 ± 0.27, 0.66 ± 0.09 mg/g, 96시간째 농도는 0.02 ± 1/0.01 mg/g, 0.06 ± 0.03 mg/g, 0.058 ± 0.02 mg/g, 1주째 농도는 0.02 ± 0.01 mg/g, 0.04 ± 0.02 mg/g, 0.03 ± 0.01 mg/g이었으며, 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 각 군의 농도도 대체로 증가하는 경향을 보였다(Tables 8 and 9). 24시간째 B군의 2,3소군의 농도는 A군과 C군의 2,3소군에 비하여, 48시간째 B군과 C군의 1,2,3소군은 A군의 1,2,3소군에 비하여, 96시간째 B군의 2,3소군의 A군의 2,3군에 비하여 높았다(P < 0.05).

3) 카드뮴과 MT 농도와와의 관계

카드뮴과 아연 전처치에 의한 간장 및 신장중 카드뮴 농도와 MT 농도와와의 상호관계는 Figs. 3, 4, 5와 같다. 간장과 신장에서 카드뮴 전처치군의 24시간째 상관계수는 r=0.952 및 r=0.785, 48시간째는 r=0.953 및 r=0.959, 96시간째는 r=0.916 및 r=0.827로서 아연 전처치군의 24시간째 상관계수 r=0.825 및 r=0.128, 48시간째는 r=0.353 및 r=0.035, 96시간째 r=0.215 및 r=0.072에 비해 현저히 높았다.

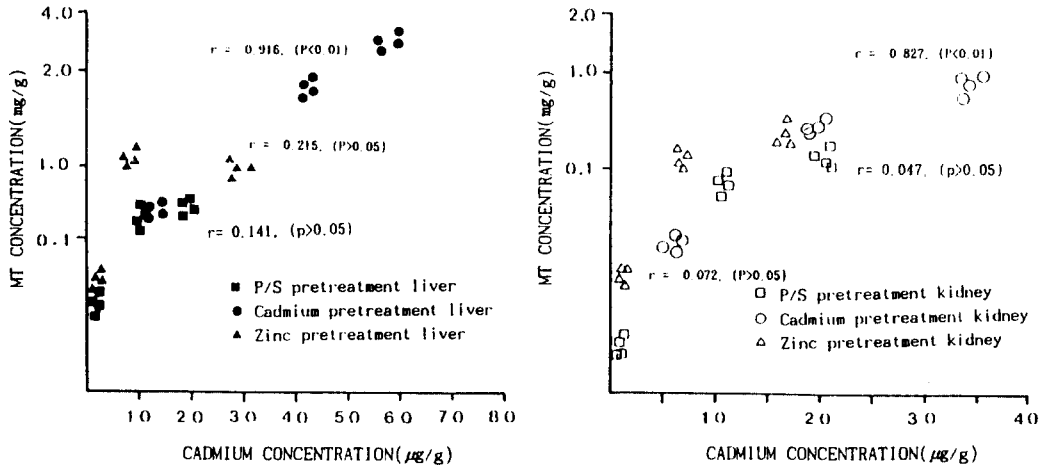


Fig. 5. Relationship between cadmium and MT in liver and kidney of rats at 96 hours given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl₂ after short-term subcutaneous pretreatment.

IV. 고 찰

카드뮴과 아연은 유사한 화학적 성질을 가지고 있어 두 금속의 상호작용에 대한 많은 연구가 이루어져 왔다. 과거에는 동물실험을 이용하여 카드뮴중독에 대한 아연의 방어작용이 관찰되었고(Cherian와 Goyer, 1979; Goering과 Klaassen, 1983), 근래에 들어 이들 중금속의 독성방어에 관여하는 것으로 알려진 MT의 생화학적 특성 및 생물학적 기능이 여러 연구자들(Cherian과 Goyer, 1979; Dunn 등, 1987; Onosaka 등, 1984)에 의해 점차 밝혀지게 되었다.

또한 MT의 생화학적 특성, 생물학적 기능 및 독성학적 방어효과를 밝히는데 앞서 MT의 정량법이 여러 연구자들(Kotsonis와 Klaassen, 1977a; Eaton과 Toal, 1982; Onosaka와 Cherian, 1982; Scheuhammer와 Cherian 1986)에 의해 추구되어 왔는데, 이들 방법 중 radioimmunoassay는 감수성과 특이성에 있어 다른 방법보다 우수하나 항체를 구하기 어렵고 많은 노력과 경비가 소요되는 단점(Onosaka와 Cherian, 1982)때문에, 최근에는 짧은 시간 내에 많은 시료를 분석할 수 있고 민감도와 특이도가 우수한 Onosaka 등(1978)의 방법을 수정한 Eaton과 Toal(1982)의 Cd-hemoglobin affinity법이 널리 이용되고 있어 본 실험에서도 많은 시료를 처리함에 있어 Cd-hemoglobin affinity법이 편리하였음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 pulse polarography 분석방법(Onosaka와 Cherian, 1982)에 의한 MT분석치와 Cd-hemoglobin affinity와 같은 metal bind-

ing assay의 직접비교가 가능하여 앞으로 국내에서도 각 생체조직에서 생성되는 MT량의 정량비교에 본 연구결과가 기초자료로 제공될 수 있다고 생각된다.

한편 중금속의 종류에 따라 MT를 합성하는 조직이 다른데, 카드뮴은 간장, 신장, 비장에서, 구리는 간장과 신장에서, 수은은 신장에서, 아연은 간장에서 주로 MT를 생성한다. 그러나 상당량의 중금속축적이 이루어지는 뼈에서 MT가 생성된다는 실험적 근거는 없다(Cherian과 Goyer, 1979). 이와 같이 각 부위에서 생성된 MT의 생물학적 기능은 중금속을 저장, 운반 및 대사시킴으로써 중금속중독에 대한 방어효과를 나타내며(Goering과 Klaassen, 1984a, b; Goyer, 1986; Dunn 등, 1987), 이러한 방어기능은 유해중금속 폭로시 나타나는 병태를 경감시킬 수 있다는 점에서 환경과 산업보건 및 독성학적 측면에서 관심이 되고 있다(Chung 등, 1986; Clarke와 Lui, 1986).

최근에는 MT가 중금속에 의해 생성된 free radical의 scavenger 역할을 하기 때문에 구리대사와 관련된 질병의 예방 및 치료 등 의학적 응용에 활용할 수 있는 가능성을 제시하고 있다(Dunn 등, 1987).

MT의 중금속독성에 대한 방어효과는 MT가 중금속과 밀접하게 결합함으로써 생물학적 반응에 참여하는 여러 효소 및 단백질이 중금속과 결합하는 것을 억제하여 발휘된다는 의견(Dudley 등, 1985; Jin 등, 1987; Sendelbach와 Klaassen, 1988; Sendelbach 등, 1989)이 지배적이나, MT가 중금속을

수용성으로 전환시켜 배설시키거나(Oh와 Whanger, 1979) 중금속을 핵, 사립체 및 내형질망과 같은 주요 세포소기관 보다는 세포질에 분포시킴으로써 독성을 경감시킨다는 견해(Cherian, 1978; Goering과 Klaassen, 1983, 1984a, b)도 있다.

지금까지의 연구결과로는 저농도의 카드뮴 및 아연을 실험동물에 전처치한 후 고농도의 중금속을 투여하여, 독성과 관련한 여러 효소들의 활성변화(Eaton 등, 1980; Goering과 Klaassen, 1984a, b; Agarwal, 1988) 및 조직손상을 초래하지 않으면서 중금속의 축적에 따른 MT생성을 유도하는 방법에 대한 연구들(Faeder 등, 1977; Gregory 등, 1977; Probst 등, 1977a, b; Goering과 Klassen, 1983, 1984 a, b; Dudley 등, 1985; Jin 등, 1987; Lehman 등, 1988; Sendelbach와 Klaassen, 1988)이 MT의 중금속 독성에 대한 방어효과를 밝히는데 의의있는 자료를 제공하고 있다. 또한 최근에는 *in vitro*에서 배양한 세포에 아연 혹은 MT유도체를 전처치한 후 중금속을 여러가지 농도로 첨가한 경우에도 MT가 중금속독성에 대한 방어효과(Kostonis와 Klaassen, 1977b; Sendelbach 등, 1989)가 있음이 밝혀졌다.

이외에도 조직내에 축적되는 카드뮴의 형태(Faeder 등, 1977; Gregory 등, 1977; Probst 등, 1977a, b; Jin 등, 1987; Lehman 등, 1988; Sendelbach와 Klaassen 등, 1988), 투여기간(Dudley 등, 1982; Jin 등, 1987), 투여경로(Cherian, 1978; Lehman과 Klaassen, 1986), 및 투여량(Kostonis와 Klaassen, 1977; Eaton 등, 1980)에 따라서도 중금속독성에 대한 방어효과가 차이가 있음을 보고하고 있다.

본 실험에서는 생리식염수, 저농도의 카드뮴 및 아연을 5일간 일정농도로 전처치한 후 고농도의 카드뮴을 투여하여 시간경과에 따라 각 조직의 카드뮴 및 아연농도를 파악하고 이들에 의해 유도된 MT의 농도를 조사하였다. 그 결과 생리식염수로 전처치한 후 카드뮴을 투여한 실험군을 비교하여 보면 카드뮴에 급성 폭로시 혈액 및 조직내의 카드뮴농도는 카드뮴 투여량에 따라서 용량대응의 관계가 있다는 연구들(Goering과 Klassen, 1983, 1984a, b; Jin 등, 1987; Lehman 등, 1988; Sendelbach와 Klaassen, 1988)과 마찬가지로 혈액 및 조직내의 시간경과에 따른 카드뮴농도는 전처치 방법과 각 조직에 따라 달랐으나 카드뮴 투여량에 따라서는 계속적인 증가를 보여 조직내 카드뮴농도의 변화는 폭로시간보다는 투여량에 더 일치하였다. 또한 MT의 생성량에 있어서도 카드뮴 투여군에서 가장 높게 나타났으며 합성하는 조직은 간장과 신

장으로 간장의 MT생성량이 신장의 생성량보다 높게 나타나 Michael 등(1984)과 Jin 등(1987)의 투여물 질과 체내 조직에 따라 MT생성량이 크게 변화된다는 연구결과와 일치하였다.

또한 생리식염수로 전처치한 후 카드뮴을 투여한 대조군과 카드뮴으로 전처치한 후 카드뮴을 투여한 실험군을 비교하여 보면, 대조군에서는 실험 개체의 사망이 관찰되었으나 실험군에서는 사망이 없었고 실험군의 간장내 카드뮴농도는 현저하게 증가함과 동시에 MT농도도 그 이상으로 증가되었는데, 증가된 MT가 고농도의 카드뮴 투여에 의한 독성을 억제하는데 효과가 있는 것으로 추측된다.

이와 같이 노출기간의 증가에 따라 간에서 신장으로의 표적장기 변화는 간에서 생성된 MT가 카드뮴과 결합하여 Cd-MT 복합체를 형성하고 혈액을 통하여 신장의 요세관에 침착한 다음, Cd-MT 복합체가 다시 용해소체에 의해 분해되어 이때 방출된 카드뮴이온에 의해 신장조직이 손상을 받는다고 설명하고 있다. 이는 생성된 MT가 조직의 중금속독성을 경감시키는데 결정적인 역할을 담당함과 동시에 각 조직별로 MT생성능력에 따라 방어정도의 차이를 보이고 표적장기가 변화됨을 알 수 있다. 이에 대해 Sendelbach와 Klaassen(1988)은 카드뮴의 형태에 따른 MT 생성량의 차이를 보고하였는데, 이러한 차이는 주로 간장에 존재하는 CdCl₂에 의해 생성되는 MT의 양에 비하여 주로 신장에 분포하는 Cd-MT에 의해 생성될 수 있는 MT의 양이 현저하게 적고 신장에서 용해소체에 의해 분해된 Cd 이온이 매우 적은 양의 MT를 생성하기 때문에 만성 카드뮴중독시 신장이 표적장기가 되고 급성중독시 간장이 표적장기가 된다는 것이다. 본 실험에서도 CdCl₂로 5일간 전처치한 경우, 신장에 비하여 간장 조직에서 더 높은 카드뮴과 MT농도로 나타나 급성 카드뮴노출에 의한 표적장기는 간장이라는 사실을 잘 반영하고 있다.

아연 전처치에 의한 방어효과는 12.0 mg/kg의 아연을 1회 피하주사한 후 4.0 mg/kg의 카드뮴을 정맥주사한 Goering와 Klaassen(1984b)의 실험에서 간장의 MT농도가 생리식염수를 투여한 대조군에 비하여 25~45배 높게 나타나고 조직학적으로도 괴사, 부종, 핵위축 등의 손상 소견이 관찰되지 않아 아연 전처치가 MT를 생성시키는 유효한 유도체임을 보여 주었다. 본 실험에서는 5일간 아연을 전처치한 간장에서 MT의 농도가 대조군에 비하여 약 60배 정도 증가하였고 복강 투여군에서도 약 6배정도 증가하여 나타났으나 카드뮴 전처치군보다는 대체로

낮게 나타났으며 조직내 MT의 생산능(potency)과 효율(efficiency)에 있어서도 아연 전처치가 카드뮴 전처치에 비하여 낮았다. 또한 아연 전처치후 조직중 카드뮴농도는 카드뮴 전처치후 조직중 카드뮴농도에 비하여 현저히 낮았고 생리식염수 전처치 후 카드뮴농도와 비슷하거나 오히려 감소하였다. 이상의 결과로 보아 아연 전처치에 의해 생성된 MT는 카드뮴 전처치로 생성된 MT가 조직내 축적된 카드뮴과 특이적으로 결합함으로써 방어효과를 보이는 것과는 차이가 있으며, MT보다는 아연이 일차적으로 카드뮴과 결합함으로써 조직내 카드뮴농도를 감소시키는 것으로 추측된다.

따라서 아연 전처치에 의한 방어효과는 카드뮴 전처치에 의한 MT의 방어효과와는 다른 기전으로 설명이 가능하리라 생각되며, 추후 조직 뿐만 아니라 혈액 및 요중 중금속농도와 MT농도가 추가되거나 중금속 방어기전에 관여하는 MT 이외의 다른 방어인자에 대한 연구가 요구된다.

V. 결 론

급성 카드뮴중독에 의한 조직내 카드뮴 축적과 독성을 파악하고자 흰쥐에 5일간의 단기간 동안 피하주사로 생리식염수, 저농도의 카드뮴 및 아연을 전처치한 후 카드뮴 3.0 mg/kg, 6.0 mg/kg를 복강내로 1회 투여한 다음 24시간, 48시간 및 96시간 후에 간장 및 신장을 적출하여 카드뮴, 아연의 축적농도 및 MT의 생성농도를 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

5일간 전처치 후 조직내 카드뮴 함량은 간장에서 가장 높았고 신장, 심장, 혈액, 근육의 순이었으며, 아연 함량은 간장, 신장, 근육이 혈액과 심장보다 높게 나타났다. 전처치 후, 카드뮴 복강투여 농도의 증가에 따라 간장과 신장의 카드뮴 농도는 모든 군에서 투여용량에 비례하여 증가하였으며, 전반적으로 카드뮴 전처치군에서 생리식염수 및 아연으로 전처치한 군보다 그 축적농도가 현저히 높았다. 또한 복강투여 후 96시간까지 각 조직의 카드뮴농도 역시 24시간째와 같이 간장에서 높게 나타났다.

MT의 농도는 간장의 경우, 카드뮴 전처치군에서 역시 가장 높았으며, 아연 전처치군, 생리식염수 전처치군의 순으로 투여용량과 비례하여 증가하였으나, 신장의 경우는 카드뮴 전처치군과 아연 전처치군간의 차이가 뚜렷하지 않았고, 전처치후 복강투여 농도가 가장 높았던 제 3소군의 경우 오히려 그 이하의 농도로 투여한 제 2소군에 비해 MT의 농

도가 낮은 경향이었으나 전반적으로 카드뮴 투여농도와 MT농도와의 관계는 간장과 신장 모두 카드뮴 전처치가 아연전처치에 비해 MT를 생산하는 능력과 효력에 있어 높게 나타났다.

참고문헌

- 1) Fasset, D. W. : Metal in the environment. New York, Academ press, 1980.
- 2) Degrave, N. : Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effect of cadmium. *Mutation Res.*, **86**, 115, 1981.
- 3) Buell, G. : Some biochemical aspects of cadmium. *Toxicol J occup Med.*, **17**, 189, 1975.
- 4) Moore, J. W. and Ramamoorthy, S. : Heavy metals in natural waters. Springer-Verlag Inc. New York, 1984.
- 5) Agarwal, A. K. : Metabolic alterations in liver and testes of adult and new born rats following cadmium administration. *Bul Environ Contam Toxicol.*, **40**, 569, 1988.
- 6) Goyer, R. A. : Toxic effects of metals. In Klaassen, C. D., Amdur, M. O., Doull, J.(eds.), Casarett and Doull's Toxicology. 3rd Ed. New York, Macmillian Publishing Co. 1986.
- 7) Hammond, P. B. and Foulkes, E. C. : Metal ion toxicity in man and animals. In Siegel, H.(ed.), Metal ions in biological systems. Vol. 20, New York, Marcel Dekker. 1986.
- 8) Lewis, G. D. : Cadmium accumulation in man. *J Chron Dis.*, **25**, 717, 1972.
- 9) Bernard, A., Roels, H., Hubermont, G., Buchet, J.P., Masson, P.L. and Lauwerys, R. R. : Characterization of the proteinuria in cadmium-exposed workers. *Occup Environ Health.*, **38**, 19, 1976.
- 10) Stvartengren, M., Elinder, C. G., Friberg, L. and Lind, B. : Distribution and concentration of cadmium in human kidney. *Environ Res.*, **39**, 1, 1986.
- 11) WHO : Environmental levels and human exposure. In IPCS environmental health criteria 134 cadmium. Geneva, WHO, 1990.
- 12) Goyer, R. A. : Toxic effects of metals. In Amdur M. O., Klassen, D. J.(eds), Casarett and Koull's Toxicol. 4th ed. Pergamon Press. Inc New York, 1991.
- 13) Probst, G. S, Bousquet, W. F., Miya, T. S. : Kinetics of cadmium-induced hepatic and renal metallothionein synthesis in the mouse. *Toxicol Appl*

- Pharmacol.*, **39**, 51, 1977a.
- 14) Probst, G. S., Bousquet, W. F. and Miya, T. S. : Correlation of hepatic metallothionein concentrations with acute cadmium toxicity in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **39**, 61, 1977b.
 - 15) Cherian, M. G. and Goyer, R. A. : Methallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Sci.*, **23**, 1, 1979.
 - 16) Onosaka, S., Tanaka, K. and Cherian, M. G. : Effects of cadmium and zinc on tissue levels of metallothionein. *Environ Health Perspect.*, **54**, 67, 1984.
 - 17) Waldron, H. A. : Metal in the environment. London Academ Press, 1980.
 - 18) Schroeder, H. A., Frost, D. V. and Balassa, J. J. : Essential trace metals in man. *J chron Dis.*, **23**, 227, 1970.
 - 19) Ganther, H. E. : Reduction of the selenotrisulfide derivative of glutathione of a persulfide and log by glutathions reductase. *Biochem.*, **10**, 4089, 1971.
 - 20) Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. : Selenium Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Sci.*, **1279**, 588, 1973.
 - 21) Sumino, K., Yamamoto, R. and Kitamura, S. : A role of selenium against methylmercury toxicity. *Nature*, **268**, 73, 1977.
 - 22) 김성현, 이재형, 고대하, 기노석 : Selenium에 의한 흰쥐의 장기내 MT변화와 Cadmium에 미치는 영향. *환경위생학회지*, **18**(3), 95, 1992.
 - 23) Eaton, D. L. and Toal, B. F. : Evaluation of the Cd/hemoglobin affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissues. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **66**, 134, 1982.
 - 24) Fuwa, K. : Determination of zinc in biological materials by AAS. *Anal Chem.*, **36**, 2407, 1964.
 - 25) Onosaka, S., Tanaka, K., Doi, M. and Odahara, K. : A simplified procedure for determination of metallothionein in animal tissues. *Eisei Kagaku.*, **24**, 128, 1978.
 - 26) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Altered subcellular distribution of cadmium following cadmium pretreatment : Possible mechanism of tolerance to cadmium-induced lethality. *Toxicol Appl Pharmacol* **70**, 195, 1983.
 - 27) Dunn, M. A., Blalock, T. L. and Cousins, R. J. : Metallothionein. *Proc Soc Exp Bio Med.*, **185**, 107, 1987.
 - 28) Kostonis, F. N. and Klaassen, C. D. : Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. *Toxicol Appl Pharmacol.* **41**, 667, 1977a.
 - 29) Olafson, R. W. and Sim, R. G. : An electrochemical approach to quantitation and characterization of metallothioneins. *Anal Biochem* **100**, 343, 1979.
 - 30) Onosaka, S. and Cherian, M. G. : Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation method. *Toxicol Appl Pharmacol.* **63**, 270, 1982.
 - 31) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Zinc-induced tolerance to cadmium hepato- toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **74**, 299, 1984a.
 - 32) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Tolerance to cadmium induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **74**, 308, 1984b.
 - 33) Chung, J., Nartey, N. O. and Cherian, M. G. : Metallothionein levels in liver and kidney of Canadian-A potential indicator of environmental exposure to cadmium. *Arch Environ Health.*, **42**, 319, 1986.
 - 34) Clarke, I. S. and Lui, M. K. : Interaction of metallothionein and carbon tetrachloride on the protective effect of zinc on hepatotoxicity. *Can J Physiol Pharmacol.* **64**, 1104, 1986.
 - 35) Dudley, R. E., Gammal, L. M. and Klaassen, C. D. : Cadmium-induced hepatic cadmium othionein in nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* **77**, 414, 1985.
 - 36) Jin, T., Nordberg, G. F. and Nordberg, M. : Resistance to acute nephrotoxicity induced by cadmium-metallothionein dependence on pretreatment with cadmium chloride. *Pharmacol Toxicol.* **61**, 89, 1987.
 - 37) Sendelbach, L. E. and Klaassen, C. D. : Kidney synthesizes less metallothionein than liver in response to cadmium chloride and cadmium metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **92**, 95, 1988.
 - 38) Sendelbach, L. E., Bracken, W. M. and Klaassen, C.D. : Comparisons of the toxicity of CdCl₂ and Cd-metallothionein in isolated rat hepatocytes. *Toxicol.*, **55**, 83, 1989.
 - 39) Oh, S. H. and Whanger, P. D. : Biological function of metallothionein VII, Effect of age on its metabolism in rats. *Am. J. Physiol.*, **237**(1), E18, 1979.
 - 40) Cherian, M. G. : Induction of renal metallothionein synthesis by parenteral cadmium-thionein

- in rats. *Biochem Pharmacol.*, **27**, 1163, 1978.
- 41) Eaton, D. L., Stacey, N. H., Wong, K. L. and Klaassen, C. D. : Dose-response effects of various metal ions on rat liver metallothionein, glutathione, heme oxygenase, and cytochrome P-450. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **55**, 393, 1980.
- 42) Faeder, E. J., Chanet, S. Q. and King, L. C. : Biochemical and ultrastructural changes in livers of cadmium treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **39**, 473, 1977.
- 43) Gregory, S. P., William, F. B. and Tom, S. M. : Correlation of hepatic metallothionein with acute cadmium toxicity in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **39**, 61, 1977.
- 44) Kostonis, F. N. and Klaassen, C. D. : Comparison of methods for estimating hepatic metallothionein in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **42**, 583, 1977b.