

식이내 단백질의 수준과 종류가 흰쥐의 Cadmium중독에 미치는 영향

김 미 경 · 서 명 숙
이화여자대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Protein Level and Source on Cadmium Intoxicification in Rats

Kim, Mi Kyung · Seo, Myung Sook

Department of Foods & Nutrition, Ewha Womans University, Seoul, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of dietary protein level and source on cadmium intoxicification in rats. Forty-eight male rats of Sprague-Dawley strain weighing $171 \pm 3g$ were blocked into 8 groups of 6 animals according to body weight, and were raised for 30 days. Eight experimental diets different with cadmium(0ppm, 400ppm)and protein(15%, 40%) levels and protein source[casein, I.S.P.(isolated soy protein)]were given to animals for 30days.

Food intake, weight gain, food efficiency ratio, liver weight, kidney weight and femur weight were lower in cadmium added group, and higher in high protein groups(40% protein) than medium protein groups(15% protein). But, dietary protein source had no influence on them. Cadmium concentration of liver was higher in rats fed casein than I.S.P. groups, and cadmium concentration in intestine was higher in high protein groups. In femur both high protein and I. S.P.diets increased cadmium concentrations. MT concentrations in liver, kidney and intestine were higher in cadmium added group, and kidney intestine MT concentration were higher in high protein group. Absorption and retention rates of cadmium were lower in rat fed I.S.P. than animal fed casein among medium protein groups and cadmium concentration in blood and liver of I.S.P. groups were lower than casein groups. But absorption and retention rates of cadmium were similar in high casein and I.S.P. groups. Renal damage by cadmium administration was not seen in all groups. Absorption rates of zinc and copper competing with cadmium in absorption process were lower in high protein groups than medium protein groups and lower in rats fed I.S.P. than casein.

In conclusion, weight gain, F.E.R., and MT concentraion of high protein groups were higher than those of medium protein groups and absorption and retention rates of cadmium were lower in high protein groups. From these results, it was shown that cadmium toxicity was alleviated by high dietary protein. Meanwhile, the effect of dietary source on the cadmium toxicity was different with protein level. In medium protein groups absorption and retention rates of cadmium were much lower in rats fed I.S.P. than casein. In high protein groups, cadmium toxicity was not influenced by protein source and absorption and retention rates of cadmium were not different between casein and I.S.P. groups. (*Korean J Nutrition* 29(6) : 578~589, 1996)

KEY WORDS : cadmium toxicity · isolated soy protein · casein · metallothionein.

서 론

물질 문명의 발달과 경제수준의 향상으로 최근 우리나라에서도 중금속으로 인한 환경오염이 심화되고 있다. 공업적으로 전기도금, 배터리, 합금, 안정제등에 이용되는¹⁾ Cd(cadmium)은 수십년동안 자연계에서 가장 위험한 오염물질의 하나로 인식되어 왔다²⁾. Cd은 원래 자연계에는 낮은 농도로 존재하나 산업화로 인해 공기, 토양, 하천, 해양이 오염되어 농산물, 축산물, 수산물에 잔류하게 된다³⁾. FAO는 성인의 경우 Cd의 섭취 허용범위를 1인당 57~71 μ g/day으로 설정했으며⁴⁾ 우리나라에서는 Cd의 전국적인 식이섭취량에 대한 보고가 아직 없으나 1980-1990년 사이 지역별 Cd섭취실태조사에 따르면 1인당 평균 55~84 μ g/day로 보고되고 있다⁵⁾. 식이로 섭취된 Cd은 장에서의 흡수율이 1~5%로 비교적 낮지만⁶⁾ 반감기가 사람의 경우 16~30년으로 매우 길기 때문에 만성적으로 Cd에 노출되면 체내 축적량이 증가한다⁷⁾. 만성적으로 흡수된 Cd은 금속을 필요로 하는 효소의 활성을 저해하거나 조직의 형태를 변화시킴으로써 독성증세를 보인다. 그 증상으로는 체중감소, 조직의 형태학적 변화, 고혈압, 단백뇨, 골연화증, 중추신경계이상과 내분비계 장애등이 있다¹⁾. 인체는 주로 식품을 통해서 Cd에 노출되고 Cd의 체내 축적량이나 Cd독성을 초기에 판단할 수 있는 방법이 없으므로 식품을 통한 Cd오염 방지 및 중독예방이 중요하다. Cd해독에 관여하는 단백질인 metallothionein(MT)은 Margoshes와 Vallee⁸⁾에 의해 말의 신장에서 처음 발견되었고 포유동물의 경우 분자량이 6000~7000이며 많은 양의 cysteine을 함유하고 있다⁹⁾. Cd뿐만 아니라 여러 금속이온들이 MT와 결합할 수 있으며 Zinc(Zn)와 Copper(Cu) 및 Cd은 흡수경로가 비슷하여 서로 경쟁하므로 Zn, Cu, Cd은 서로간의 대사에 영향을 미칠 수 있다¹⁰⁾. MT는 체내 어디에서나 합성될 수 있으나 간과 신장에서 가장 많이 합성되며 Cd과 결합하여 체내의 free ion상태의 reactive Cd을 sensitive site에 결합시켜 Cd의 독성을 막아준다¹⁰⁾¹²⁾. Cd의 만성중독에 대한 MT의 작용은 이 이외에도 순환계로부터 조직으로의 Cd이행을 증가시킴으로써 순환계에서 Cd을 제거시키고 따라서 중앙 신경계나 기타 vital organ에서 cadmium이 작용하는 것을 방지하는데 그 의의가 있다고 하겠다¹³⁾. Cd의 반감기는 사람의 경우 16~30년으로 매우 길지만 MT반감기는 결합되는 금속에 따라 다르지만 1~4일로 비교적 짧으므로 Cd의 해독작용을 위해서는 MT이 계속해서 합성되어야 한다¹⁴⁾. 그런데 MT합성은

나이 중, 조직뿐 아니라 식이요인에 의해서도 영향을 받는다⁹⁾. 선행연구에서 고단백식이 Cd중독을 완화시킨다고 보고되고 있는데 이해영과 김미경¹⁵⁾의 실험에 의하면 고단백식을 먹인 군에서 변과 뇨로의 Cd배설량이 많았는데 이들은 이것을 Cd이 장내에서 단백질 소화효소의 작용을 방해하여 이로 인해 생성된 oligopeptide들이 고단백 식이로 증가하여 이들과 결합하여 배설되는 Cd양이 증가했기 때문이라고 설명했다¹⁶⁾¹⁷⁾. 또한 소장에서 합성된 MT은 Cd와 결합하여 존재하다가 소장세포가 박리될 때 Cd을 변으로 배설시키고⁶⁾ 간의 MT은 Cd과 결합하여 신장으로 이동한 후 뇨로 Cd을 배설시키는 작용을 하므로¹⁸⁾ 식이 단백질은 높은 수준으로 공급하면 MT합성이 증가하여 Cd배설량이 늘어나고 Cd을 효과적으로 격리시킬 수 있을 것으로 생각된다.

한편 Kojima 등¹⁶⁾은 soy protein의 주성분인 glycinin의 분해산물인 oligopeptide들이 ovalbumin이나 gelatin의 분해산물보다 Cd과 결합하는 능력이 커서 Cd배설을 증가시켜 glycinin군의 체내 Cd보유율이 ovalbumin이나 gelatin군에 비해 낮았다고 보고하였다. 또한 Revis 등¹⁹⁾의 보고에 의하면 MT농도가 저단백식이(5.5%)에 cysteine(0.04%)을 첨가했을 때 고단백식이(67.5%)군과 비슷하게 높아 식이내 cysteine수준이 MT합성에 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다. 그러나 methionine이 cysteine으로 전환될 수 있으므로 MT합성이 식이내 포함된 cysteine수준뿐 아니라 methionine수준에도 영향을 받을 것으로 생각된다. 따라서 단백질 종류가 다를 경우 Cd과의 흡착능력과 total sulfur amino acid(cysteine, methionine)함량이 차이가 나므로 Cd흡수율과 MT합성정도가 달라질 것으로 예상된다.

따라서 본 실험에서는 단백질 수준(15%, 40%)과 종류(total sulfur amino acid함량이 다른 casein(3%), I.S.P.(2.3%))를 달리하여 이들이 Cd대사에 미치는 영향을 알아보고 아울러 단백질 수준과 종류중 어느 인자가 더 많은 영향을 미치는지 또는 이 두인자가 서로 상승작용을 하는지를 살펴보고자 하였다. 이를 위해 Cd대사, MT합성, Cd에 의해 손상받기 쉬운 신장의 기능 및 장내 흡수시 Cd과 경쟁하는 Zn과 Cu의¹¹⁾ 흡수율을 알아보았다.

실험재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육 및 식이

생후 4주(평균체중 : 171 \pm 3g)된 Sprague-Dawley

종 수컷 흰쥐 48마리를 실험 시작전 7일간 고형식으로 적응시킨 뒤 체중에 따라 난괴법(completely randomized-block design)에 의하여 식이내 Cd(0, 400ppm), 단백질 수준(15%, 40%), 단백질 종류(casein, I.S.P.)를 달리한 식이로 6마리씩 8군으로 나누어 30일간 사육하였다.

실험동물은 한마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였으며 실험에 사용된 cage, 식이그릇, 물병 등의 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 0.4% EDTA(Ethylene Diamine Tetra Acetic acid)용액으로 세척한 후 탈 이온 증류수로 행구어 사용하였다. 물과 식이는 제한없이 먹게 하였다.

실험 식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수전분(corn starch, 풍진)을, 지방급원으로는 옥수수유(corn oil, 제일제당)를 사용하였으며 단백질 급원으로는 casein (Murray Goulburn Co-operative Co., Australia)과 I.S.P.(isolated soy protein, Protein Technologies International Inc. Supro 535)를 사용하였고 무기질과 비타민류는 시약급을 이용하였다.

Casein과 I.S.P.의 단백질 함량은 84%로 동일했고

casein과 I.S.P.의 total sulfur containing amino acid의 함량은 각각 3%(cysteine 0.4%, methionine 2.6%), 2.3%(cysteine 1.1%, methionine 1.2%)였다. Cd은 배계현²⁰⁾의 연구를 참고로하여 cadmium chloride(CdCl₂, Showa Chemical, Japan)로 식이무게의 0.04%인 400ppm으로 정하였다.

본 실험에서 사용한 실험 식이의 구성 성분은 Table 1과 같다.

실험기간 동안의 식이 섭취량은 일주일에 2번 일정한 시간에 측정하였다. 체중은 일주일에 한번 일정한 시간에 측정하였고 식이섭취에서 오는 갑작스런 체중변화를 막기 위하여 체중측정 2시간전에 식이그릇을 빼주었다. 식이효율(food efficiency ratio, F.E.R.)은 실험 전 기간의 체중증가량을 같은 기간에 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였다.

2. 시료수집 및 분석

1) 시료의 채취

Cd 보유율과 흡수율 측정을 위해 실험 종료전 6일동안 10,000ppm의 Cd용액 0.2ml를 하루에 한번 일정한

Table 1. Composition of experimental diets(per Kg diet)

Ingredient	N M C ⁶⁾	N M S	N H C	N H S	Cd M C	Cd M S	Cd H C	Cd H S
corn starch(g)	703.14	703.14	453.14	453.14	702.74	702.74	452.74	452.74
casein(g)	150	-	400	-	150	-	400	-
soy protein(g)	-	150	-	400	-	150	-	400
corn oil(g)	100	100	100	100	100	100	100	100
CdCl ₂ (g)	-	-	-	-	0.4	0.4	0.4	0.4
salt mixture ¹⁾ (g)	40	40	40	40	40	40	40	40
Vit A, D mixture ²⁾ (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1
Vit E,K mixture ³⁾ (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2
water soluble vitamin ⁴⁾ (mg)	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86
VitB ₁₂ ⁵⁾ (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1

1) Salt mixture(g / diet) : Calcium phosphate dibasic 20, Sodium chloride 2.96, Potassium citrate monohydrate 8.8, Potassium sulfate 2.08, Magnesium oxide 0.96, Manganous carbonate 0.14, Ferric citrate 6H₂O 0.24, Zinc carbonate 0.064, Cupric carbonate 0.012, Potassium carbonate 0.0004, Sodium selenite 0.0004, Cromium potassium sulfate 0.0002, Sucrose, finely powdered to make 40g

2) Vit A,D mixture(mg / ml corn oil) : Vit A 0.1, Vit D 0.01

3) Vit E,K mixture (mg / ml corn oil) : *α*-Tocopherol acetate 25, Menadione 1

4) Water soluble mixture (mg / Kg diet) : Choline chloride 2000, Thiamine hydrochloride 10, Riboflavin 20, Nicotinic acid 120, Pyridoxine 10, Calcium pantothenate 100, Biotin 0.05, Folic acid 4, Inositol 500, Para-Aminobenzoic acid 100

5) Vit B₁₂(mg / ml distilled water) : Vit B₁₂ 0.01

6) NMC : none Cd+ medium protein(15%, casein)

NMS : none Cd+medium protein (15%, I.S.P.)

NHC : none Cd+high protein (40%, casein)

NHS : none Cd+high protein (40%, I.S.P.)

CdMC : Cd added(400ppm)+medium protein (15%, casein)

CdMS : Cd added(400ppm)+medium protein (15%, I.S.P.)

CdHC : Cd added(400ppm)+high protein (40%, casein)

CdHS : Cd added(400ppm)+high protein (40%, I.S.P.)

시각에 tube feeding하였고 실험동물은 희생하기 5일전에 대사장(metabolic cage)에서 48시간 동안 뇨와 변을 채취하였다. 뇨와 변을 채취할 때 식이에 의하여 시료의 성분이 오염되는 것을 방지하기 위해 식이 그릇을 대사장에 넣어주지 않았으며 하루중 뇨와 변을 채취하지 않는 때는 식이를 공급해 주었다. 또한 tube feeding으로 인한 stress를 고려하여 Cd 비공급군에게도 동량의 탈이온 증류수를 tube feeding하였다. Cd 보유율과 흡수율은 1일 동안의 Cd경구투여량과 1일 뇨와 변의 배설량을 통하여 계산하였다.

채취한 뇨는 100ml가 되도록 탈이온 증류수로 희석하여 7,000rpm에서 10분간 원심분리시켜 상층액만을 냉동보관하여 분석에 이용하였다. 변은 젖은 상태로 냉동보관하였다가 분석에 이용하였다.

실험기간이 끝난 후 12시간 동안 굶긴 동물을 ethyl ether로 마취시켜서 단두에 의해 희생시키고 혈액을 채취하였다. 혈액채취 직후 hematocrit값은 heparin으로 처리된 모세관에 혈액을 빨아 올려 원심분리시킨 다음 packed red cell volume의 백분율로 측정하였다. 또 혈액의 일부는 heparin처리를 한 시험관에 받아 냉동보관하였고, 나머지는 실온에서 30분이상 방치시켰다가 2,000rpm에서 30분간 원심분리시켜 혈청을 얻어 분석시까지 냉동보관하였다.

혈액 채취 즉시 실험 동물을 해부하여 간, 신장, 소장, 대퇴골을 떼어내어 무게를 측정하였다.

간, 신장, 소장의 경우 MT측정을 위해 절반은 -70℃의 deep freezer에 보관하고 나머지는 Cd측정을 위해 -20℃의 냉동고에 보관하였으며, 대퇴골도 Cd측정을 위해 -20℃의 냉동고에 보관하였다.

2) 생화학적 분석

혈액과 뇨의 Cd 농도는 Zinterhofer법²¹⁾으로, 그리고 간, 신장, 소장, 대퇴골, 변의 Cd 농도는 Yeager법²²⁾에 의하여 AAS로 농도를 측정하였다.

간, 신장, 소장의 MT농도는 Cadmium/hemoglobin affinity assay방법²³⁻²⁵⁾을 이용하여 측정하였다. 즉, 각 조직을 10mM Tris-HCl용액으로 균질화시킨 후 10,000rpm에서 10분간 원심분리하고 supernatant fraction을 boiling water bath에서 2분간 가열한 후 10,000rpm에서 2분간 원심분리하여 cytosol을 얻는다. 일정량의 cytosol에 0.26mM Cd용액을 첨가하여 MT을 saturation시킨다. 여기에 RBC hemolysate를 첨가하고 95℃ boiling water bath에서 2분간 가열한 후 10,000rpm에서 2분간 원심분리한다. 이 과정에 의하여 과량의 Cd과 MT이외의 기타 단백질에 붙은 Cd을 제거

한 후, AAS로 cytosol내의 Cd농도를 측정하여 1mol의 MT(Mol wt 6050으로 가정)에 7mol의 Cd이 붙는다는 가정하에 MT농도를 구하였다.

변의 zinc, copper농도는 변을 회화시켜 1N HCl에 녹인 다음 0.1N HCl로 희석하여 AAS를 이용하여 Zn는 파장 213.9nm, Cu는 파장 423.8nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. Zn와 Cu의 섭취량은 식이구성성분(casein, I.S.P., cupric carbonate, zinc carbonate)내의 함량을 계산하여 산출하였다. Apparent Zn 또는 Cu absorption rate는 각각 Zn, Cu의 섭취량에서 변을 통한 Zn, Cu배설량을 뺀 다음 Zn, Cu의 섭취량으로 나누어 계산하였다.

뇨중 단백질 배설량은 Lowry 방법²⁶⁾을 이용하였고 creatinine 배설량은 Folin의 방법²⁷⁾²⁸⁾에 의해 비색정량하였으며 혈청의 creatinine 농도는 Folin and Wu의 방법²⁸⁾을 이용하여 spectrophotometer로 520nm에서 비색정량하였고 이로부터 creatinine clearance (Glomerular filtration rate, GFR, ml/min)를 계산하였다.

4. 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였고 각 실험군당 평균치의 비교는 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후, $\alpha=0.05$ 수준에서 Scheffé의 다중비교(multiple comparison test)를 하였다. 또한 각 실험인자 (A : Cd공급유무, B : 식이 단백질수준, C : 단백질 종류)의 영향과 이들의 상호작용 (AB : Cd×단백질수준, AC : Cd×단백질 종류, BC : 단백질수준×단백질종류, ABC : Cd×단백질수준×단백질종류)에 의한 영향은 $\alpha=0.05$ 수준에서 삼원배치 분산분석(three-way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다²⁶⁾.

실험결과

1. 식이 섭취량과 체중변화 및 식이효율

Table 2에 의하면 식이 섭취량은 Cd공급유무에 의한 영향, 단백질 수준과 종류의 상호작용에 의한 영향이 유의적이어서 Cd 공급군이 비공급군보다 낮은 경향을 보였다.

체중 증가량과 식이효율(F.E.R.)은 Cd 공급유무, 단백질 수준에 의한 영향을 받아 Cd공급군들에서 현저한 성장저하가 있었으며 고단백군들에서 체중증가량이나 식이효율이 중단백군에 비해 높은 경향을 보였으나 단백질 종류에 따른 차이는 볼 수 없었다. Hematocrit va-

Table 2. Food intake, body weight gain, food efficiency ratio and hematocrit value

Groups	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/30days)	F.E.R.	Hematocrit
N M C	17.35 ¹⁾ ± 0.61 ^{ab2)}	111.58 ± 14.45 ^{ab}	0.20 ± 0.02 ^{ab}	36.30 ± 2.92 ^{N.S.3)}
N M S	19.40 ± 0.25 ^a	108.51 ± 10.05 ^b	0.18 ± 0.02 ^{abc}	41.35 ± 0.90
N H C	20.83 ± 1.66 ^a	161.64 ± 12.82 ^a	0.26 ± 0.03 ^a	40.78 ± 1.59
N H S	17.22 ± 1.06 ^{ab}	125.34 ± 2.79 ^{ab}	0.23 ± 0.02 ^a	39.17 ± 1.45
Cd M C	11.89 ± 0.88 ^b	22.05 ± 8.79 ^c	0.06 ± 0.03 ^d	35.93 ± 2.08
Cd M S	12.20 ± 0.90 ^b	16.15 ± 6.23 ^c	0.05 ± 0.02 ^d	35.15 ± 2.20
Cd H C	13.35 ± 0.90 ^b	30.46 ± 6.17 ^c	0.08 ± 0.02 ^{cd}	31.37 ± 2.85
Cd H S	12.77 ± 1.10 ^b	33.59 ± 8.77 ^c	0.09 ± 0.03 ^{bcd}	34.73 ± 1.19
Significant factor ⁴⁾	A, BC	A, B	A, B	A

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test3) Not significant at $\alpha=0.05$ by Scheffé test

4) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA

A : Cd effect was significant at $\alpha=0.05$ B : The effect of protein level was significant at $\alpha=0.05$ C : The effect of protein source was significant at $\alpha=0.05$ AB : Effect of cadmium × protein level was significant at $\alpha=0.05$ AC : Effect of cadmium × protein source was significant at $\alpha=0.05$ BC : Effect of protein level × protein source was significant at $\alpha=0.05$ ABC : Effect of cadmium × protein level × protein source was significant at $\alpha=0.05$ **Table 3.** Liver, kidney and femur weights, and femur length

Groups	Liver		Kidney		Femur	
	Wet wt.(g)		Wet wt.(g)	Dry Wt.(g)	Ash Wt.(g)	Length(cm)
N M C	8.42 ¹⁾ ± 0.43 ^{ab2)}		1.82 ± 0.10 ^{bc}	0.46 ¹⁾ ± 0.02 ^{abc2)}	0.24 ± 0.01 ^{abc}	3.42 ± 0.05 ^{ab}
N M S	7.89 ± 0.41 ^{ab}		1.90 ± 0.08 ^{bc}	0.45 ± 0.02 ^{abcd}	0.24 ± 0.01 ^{abc}	3.36 ± 0.03 ^{abc}
N H C	10.27 ± 1.01 ^a		2.67 ± 0.16 ^a	0.52 ± 0.02 ^a	0.30 ± 0.01 ^a	3.58 ± 0.04 ^a
N H S	8.75 ± 0.47 ^{ab}		2.27 ± 0.10 ^{ab}	0.48 ± 0.02 ^{ab}	0.26 ± 0.01 ^{ab}	3.48 ± 0.05 ^{ab}
Cd M C	6.37 ± 0.41 ^b		1.50 ± 0.07 ^c	0.38 ± 0.02 ^{bcd}	0.19 ± 0.01 ^{cd}	3.11 ± 0.06 ^c
Cd M S	6.29 ± 0.39 ^b		1.43 ± 0.08 ^c	0.34 ± 0.02 ^d	0.17 ± 0.01 ^d	3.12 ± 0.06 ^c
Cd H C	7.27 ± 0.27 ^b		1.82 ± 0.04 ^{bc}	0.37 ± 0.01 ^{cd}	0.19 ± 0.01 ^{bcd}	3.15 ± 0.01 ^{bc}
Cd H S	6.98 ± 0.42 ^b		1.77 ± 0.10 ^{bc}	0.37 ± 0.03 ^{bcd}	0.19 ± 0.02 ^{cd}	3.13 ± 0.07 ^c
Significant factor ³⁾	A, B		A, B, AB	A, B	A, B	A, B

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2)

lue는 Cd 공급에 의한 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 비교적 낮은 경향을 보였으나 모든 실험군간에 유의적 차이는 없었다.

2. 장기무게

동물을 희생시킨 후 측정된 간, 신장, 고환의 무게와 각 장기의 무게를 체중 100g에 대한 무게로 환산한 값은 Table 3과 같았다. 간이나 신장 무게는 Cd공급과 식이 단백질 수준에 의해 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮았으며 고단백군이 중단백군보다 높았고 신장의 경우 Cd 공급군의 고단백군과 Cd비공급군의 중단백군의 무게가 비슷했다. 그런데 간이나 신장무게 모두 단

백질 종류에 의한 영향은 받지 않았다. 대퇴골의 건조 무게와 길이 및 회분 함량은 모두 Cd공급유무와 식이 단백질 수준에 의한 영향을 받아 Cd 공급군이 비공급군에 비해 낮았고 고단백군이 중단백군에 비해 다소 높은 경향을 보였다. 그러나 단백질 종류에 의한 영향은 볼 수 없었다.

3. 혈액, 간, 신장, 소장, 대퇴골의 Cd 농도

혈액 등 각 조직의 Cd 농도는 Table 4에 제시하였다.

혈액의 Cd농도는 Cd공급 유무에 의한 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 높았으나 식이 단백질 수준 및 종류에 의한 차이는 없었다. 간의 경우 Cd공급군

Table 4. Cadmium concentrations in blood, liver, kidney, intestine and femur

Groups	Whole blood (µg/100ml)	Liver (µg/g wet wt.)	Kidney (µg/g wet wt.)	Small intestine (µg/g wet wt.)	Femur (µg/g wet wt.)
N M C	0.74 ¹⁾ ±0.61 ^{c2)}	0.90±0.41 ^c	0.42±0.16 ^b	0.19±0.05 ^b	0.28±0.05 ^c
N M S	1.24 ±0.78 ^c	1.46±0.65 ^c	0.23±0.08 ^b	0.28±0.07 ^b	0.58±0.08 ^{bc}
N H C	2.98 ±1.14 ^c	0.06±0.05 ^c	0.10±0.05 ^b	0.47±0.07 ^b	0.46±0.07 ^{bc}
N H S	2.23 ±1.21 ^{bc}	1.04±0.48 ^c	0.07±0.02 ^b	0.45±0.06 ^b	0.84±0.10 ^{bc}
Cd M C	16.42 ±3.00 ^a	44.32±4.60 ^a	33.59±2.36 ^a	4.15±0.53 ^a	0.78±0.13 ^{bc}
Cd M S	13.14 ±2.68 ^{ab}	31.59±1.73 ^b	32.19±1.80 ^a	4.82±0.78 ^a	1.02±0.16 ^b
Cd H C	16.42 ±3.00 ^a	36.97±2.43 ^{ab}	30.95±3.31 ^a	7.59±1.24 ^a	2.34±0.11 ^a
Cd H S	17.79 ±2.29 ^a	32.77±1.63 ^b	37.06±2.34 ^b	5.76±0.92 ^a	2.73±0.13 ^a
Significant factor ³⁾	A	A, C, AC	A	A, B, AB	A, B, C, AB

- 1) Mean ± S.E.
- 2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Scheffé test
- 3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2)

Table 5. Urinary and fecal excretion of cadmium, cadmium absorption and retention ratio.

Groups	Urine(µg/day)	Feces(µg/day)	Cadmium absorption ratio(%)	Cadmium retention ratio(%)
N M C	¹⁾ 0.34±0.11 ^{c2)}	26.23± 3.72 ^c	-	-
N M S	0.40±0.20 ^c	39.35± 9.60 ^c	-	-
N H C	0.30±0.10 ^c	38.48± 9.71 ^c	-	-
N H S	1.04±0.42 ^{bc}	32.94± 6.03 ^c	-	-
Cd M C	6.62±1.43 ^{abc}	283.44± 64.75 ^{bc}	5.83± 3.24 ^{N.S.3)}	85.50± 3.26 ^{N.S.}
Cd M S	9.92±2.86 ^{ab}	1020.83±252.45 ^{ab}	48.96±12.67	57.77±12.69
Cd H C	11.96±1.98 ^a	1229.17±273.09 ^a	46.78±10.89	37.94±13.69
Cd H S	9.82±2.67 ^{ab}	879.61±231.47 ^{abc}	56.02±11.57	56.79±10.91
Significant factor ⁴⁾	A	A, BC, ABC		

- 1) Mean ± S.E.
- 2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Scheffé test
- 3) Not significant at α=0.05 by Scheffé test
- 4) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA. (See Table 2)

에서 Cd농도가 높았고 단백질 종류에 의한 차이는 Cd 공급유무에 따라 달라 Cd 비공급군에서는 I.S.P.군이 casein 군보다 높았다. 신장의 Cd함량은 Cd공급유무에 만 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 높았고 Cd 공급군내에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 소장 경우 Cd공급 유무, 단백질 수준, 그리고 Cd공급유 무와 단백질 수준의 상호작용에 의한 영향을 받아 Cd공 급군에서 다소 높았으며 Cd공급군내에서 유의적인 차이 를 보이지 않았으나 식이 단백질 수준이 높은 군에서 다 소 높은 경향을 보였다. 대퇴골의 Cd 농도는 Cd 공급군 이 비공급군에 비해 높았고 고단백군이 중단백군보다 높 았으며 I.S.P.군이 casein군에 비해 다소 높은 경향을 나타내었다. 혈액 및 조직의 Cd 농도는 모두 Cd공급에 의한 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 높았고 단백질 수준에 따라 소장과 대퇴골의 Cd농도가 차이가 나서 고단백군이 중단백군보다 높았으며 간은 casein군 이 대퇴골은 I.S.P.군이 더 높아 이들은 단백질 종류에

의한 영향을 받았다.

4. 뇨, 변중의 Cd 배설량, Cd 보유율과 흡수율

Tube feeding에 의해 모든 실험동물에게 동량의 Cd를 공급하는 동안 채취한 뇨와 변중의 Cd배설량과 흡수율 및 보유율은 Table 5에 수록하였다.

뇨로 배설된 Cd함량은 Cd 공급에 의한 영향을 받아 Cd 공급군에서 높았고 식이단백질 수준이나 종류에 의 한 뚜렷한 영향은 나타나지 않았으나 CdHC군이 다소 높았다. 변으로 배설된 Cd함량은 Cd공급유무에 의한 영향, 단백질 수준과 종류의 상호작용에 의한 영향, 세가 지 식이인자의 상호작용에 의한 영향이 유의적이어서 Cd공급군이 높았으며 casein공급군에서 단백질 수준에 의한 영향이 현저히 나타나 단백질 수준이 높은 군 (CdHC)에서 Cd배설량이 가장 높았다.

Cd 흡수율과 보유율은 유의적인 차이를 보이지 않았 으나 Cd공급군에서 HC군의 뇨와 변으로의 Cd배설량

이 높아서 Cd흡수율과 보유율이 가장 낮았다. 그에 비해 뇨와 변으로의 Cd배설량이 가장 낮았던 MC군은 다른 군에 비해 높은 Cd흡수율과 보유율을 보였다.

6. 간, 신장, 소장의 MT 농도

Metallothionein은 정상 조건에서는 매우 낮은 농도로 생체내에 존재하다가 Cd등에 의해 합성이 촉진되어 간을 비롯한 각종 장기에서 수준이 높아져 Cd을 세포내에 격리시켜 Cd중독을 완화시킨다³¹⁾. 따라서 Cd을 공급한 후 MT수준을 측정해 봄에 의해 Cd중독에 대한 중독 및 해독정도를 추정해 볼 수 있으리라 생각된다.

간, 신장, 소장의 MT농도는 모두 Cd을 공급한 군들에서 유의적으로 높은 수준을 나타내었다. 각각의 농도는 Table 6에 제시하였다.

간의 MT농도는 Cd공급군내에서 유의적 차이를 보이지 않았으나 casein군이 단백질 수준과 관계없이 I.S.P.군보다 다소 높은 경향을 보였다. 신장의 경우 단백질 수준에 의한 영향을 받아 고단백군이 중단백군에 비해 그 농도가 높았다. 소장의 경우에는 Cd공급유무, 단백

질 수준에 의한 영향, Cd공급유무와 단백질수준의 상호작용에 의한 영향이 유의적이어서 Cd공급군에서 단백질 수준에 따라 현저하게 차이가 나서 중단백군은 Cd비공급군과 그농도가 비슷한 정도로 낮았고 단백질 수준이 높은 군에 비해 낮았다.

7. 신장의 사구체 여과율 및 뇨중 단백질 배설량

뇨 creatinine배설량, 혈청 creatinine농도와 creatinine clearance(사구체 여과율) 및 뇨중 단백질 배설량은 Table 7에 수록하였다.

뇨 creatinine배설량은 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

혈청 creatinine농도는 Cd공급군에서 식이 단백질 수준이 높은 군에서 더 높았고 I.S.P.군이 casein군보다 그 농도가 다소 높은 경향을 보였다. 신장의 사구체 여과율은 식이단백질 종류에 의한 영향, Cd공급유무와 식이단백질 수준의 상호작용에 의한 영향이 유의적이어서 I.S.P.을 공급한 군이 casein을 공급한 군에 비해 낮았고 Cd공급군에서 식이단백질 수준이 높을 때 그 수치

Table 6. Metallothionein concentrations in liver, kidney and intestine

Groups	Liver(µg/g wet wt.)	Kidney(µg/g wet wt.)	Intestine(µg/g wet wt.)
N M C	¹⁾ 6.23 ± 1.34 ^{b2)}	8.02 ± 1.39 ^b	3.97 ± 0.71 ^b
N M S	7.82 ± 0.54 ^b	8.55 ± 0.47 ^b	5.03 ± 0.59 ^b
N H C	11.25 ± 1.67 ^b	18.68 ± 2.40 ^b	6.79 ± 0.77 ^b
N H S	10.46 ± 2.06 ^b	20.96 ± 2.53 ^b	6.44 ± 0.80 ^b
Cd M C	122.23 ± 17.20 ^a	67.27 ± 6.07 ^a	5.30 ± 0.60 ^b
Cd M S	106.91 ± 8.03 ^a	65.68 ± 4.01 ^a	4.24 ± 0.86 ^b
Cd H C	119.59 ± 10.94 ^a	74.93 ± 5.51 ^a	13.48 ± 2.28 ^a
Cd H S	103.21 ± 10.71 ^a	72.55 ± 7.07 ^a	9.08 ± 1.41 ^{ab}
Significant factor ³⁾	A	A, B	A, B, AB

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Scheffé test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2)

Table 7. Urinary protein excretion and glomerular filtration ratio(GFR)

Groups	Urinary protein (mg/day)	Urinary creatinine (mg/day)	Serum creatinine (mg/100ml)	Ccr(=GFR)
N M C	¹⁾ 0.60 ± 0.17 ^{b2)}	8.75 ± 0.85 ^{N.S.3)}	1.31 ± 0.09 ^{ab}	0.47 ± 0.04 ^b
N M S	0.48 ± 0.12 ^b	7.84 ± 0.87	1.65 ± 0.16 ^a	0.35 ± 0.05 ^b
N H C	1.63 ± 0.33 ^a	12.17 ± 1.55	1.38 ± 0.16 ^{ab}	0.67 ± 0.14 ^{ab}
N H S	0.78 ± 0.10 ^{ab}	8.68 ± 1.53	1.55 ± 0.13 ^{ab}	0.41 ± 0.09 ^b
Cd M C	0.66 ± 0.13 ^b	11.61 ± 1.19	0.83 ± 0.10 ^b	1.10 ± 0.24 ^a
Cd M S	0.12 ± 0.06 ^b	10.35 ± 2.15	1.21 ± 0.12 ^{ab}	0.58 ± 0.08 ^{ab}
Cd H C	0.98 ± 0.12 ^{ab}	9.31 ± 1.45	1.51 ± 0.18 ^{ab}	0.45 ± 0.06 ^b
Cd H S	1.05 ± 0.17 ^{ab}	8.54 ± 1.29	1.65 ± 0.11 ^a	0.37 ± 0.06 ^b
Significant factor ⁴⁾	B, C, ABC		B, C, AB	C, AB

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Scheffé test

3) Not significant at α=0.05 by Scheffé test

4) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2)

Table 8. Zinc intake, fecal excretion and apparent zn absorption rate

Groups	Zn intake($\mu\text{g/day}$)	Zn fecal excretion ($\mu\text{g/day}$)	Apparent Zn absorption rate.(%)
N M C	¹⁾ 642.07 \pm 22.47 ^{abcd2)}	306.00 \pm 59.80 ^{ab}	53.09 \pm 8.28 ^{N,S,3)}
N M S	742.02 \pm 6.74 ^{abc}	458.44 \pm 94.17 ^{ab}	46.62 \pm 9.35
N H C	826.88 \pm 65.36 ^a	563.63 \pm 96.70 ^a	40.05 \pm 7.50
N H S	772.29 \pm 38.67 ^{ab}	431.63 \pm 67.71 ^{ab}	43.44 \pm 8.90
Cd M C	440.05 \pm 32.40 ^d	190.50 \pm 35.52 ^b	55.10 \pm 9.55
Cd M S	479.46 \pm 29.93 ^d	373.13 \pm 43.05 ^{ab}	29.34 \pm 4.00
Cd H C	586.61 \pm 28.62 ^{bcd}	413.82 \pm 66.35 ^{ab}	35.09 \pm 8.09
Cd H S	541.44 \pm 46.60 ^{cd}	382.50 \pm 14.19 ^{ab}	27.31 \pm 5.63
Significant factor ⁴⁾	A, B, BC	A, B, BC	

1) Mean \pm S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test

3) Not significant at $\alpha=0.05$ by Scheffé test

4) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2)

Table 9. Copper intake, fecal excretion and apparant Cu absorption rate

Groups	Cu intake($\mu\text{g/day}$)	Cu fecal excretion($\mu\text{g/day}$)	Apparent Cu absorption rate.(%)
N M C	¹⁾ 120.54 \pm 4.22 ^{abc2)}	39.10 \pm 7.48 ^{ab}	67.95 \pm 5.56 ^a
N M S	138.59 \pm 1.26 ^a	75.13 \pm 15.27 ^{ab}	45.90 \pm 10.78 ^{ab}
N H C	146.33 \pm 11.67 ^a	72.73 \pm 12.22 ^{ab}	50.27 \pm 7.31 ^{ab}
N H S	133.04 \pm 6.66 ^{ab}	76.43 \pm 12.24 ^{ab}	42.17 \pm 8.87 ^{ab}
Cd M C	82.61 \pm 6.08 ^c	26.58 \pm 4.86 ^b	66.63 \pm 6.33 ^a
Cd M S	89.59 \pm 5.59 ^c	68.10 \pm 8.89 ^{ab}	31.68 \pm 5.05 ^{ab}
Cd H C	98.80 \pm 6.35 ^{bc}	61.65 \pm 0.18 ^{ab}	34.20 \pm 9.90 ^{ab}
Cd H S	110.57 \pm 11.61 ^{abc}	87.77 \pm 9.99 ^{ab}	20.22 \pm 3.84 ^b
Significant factor ³⁾	A, B	B, C	A, B, C

1) Mean \pm S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 2)

가 낮았다.

뇨중 단백질 배설량은 단백질 수준, 단백질 종류 및 세 가지 식이인자의 상호작용에 의한 영향을 받아 고단백군이 높았으며 CdHS군을 제외하면 casein군이 I.S.P.군 보다 높았다.

8. Zinc와 copper의 섭취량 및 변배설량 및 흡수율

Zn의 섭취량과 변배설량은 Table 8에서 보는 바와 같이 Cd공급유무, 단백질 수준 및 단백질 수준과 종류의 상호작용에 의한 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮았고 고단백군이 중단백군보다 더 높은 수치를 나타내었다. 변배설량의 경우 중단백군에서는 I.S.P.군이 고단백군에서는 casein군이 더 높았다. 그러나 흡수율은 실험군들간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 NMC과 CdMC군이 다소 높았다. Cu의 섭취량은 Table 9에서 보는 바와 같이 Cd공급유무, 그리고 단백질 수준에 의한 영향이 유의적이어서 Cd공급군이 비공

급군에 비해 낮은 수치를 보였으며 고단백군에서 높았다. 변배설량은 단백질 수준과 종류에 영향을 받아 고단백군에서 높았고, 또 I.S.P.군이 casein군에 높았다. Cu흡수율은 세가지 식이인자의 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮았고 단백질 수준이 높은 군이 낮은 수치를 나타냈으며 또한 I.S.P.공급군이 casein공급군에 비해 더 낮아 CdHS군의 흡수율이 가장 낮았다.

고 찰

식이내 단백질 수준과 종류가 Cd중독에 미치는 영향을 알아보기 위하여 본 연구에서는 단백질 수준을 15%와 40%로 공급하였고 수준마다 단백질 종류를 달리하여 각각 casein과 I.S.P.을 공급하였다.

체중증가가 Cd를 섭취한 동물에서 낮았다는 여러 보고¹⁷⁾²⁰⁾³⁰⁾³¹⁾들과에서와 같이 본 실험에서도 Cd공급군의 식

이섭취량, 체중증가량, 식이효율이 비공급군에 비해 낮았다. Cd공급군에서 고단백군의 체중증가량과 식이효율이 비공급군에 비해 낮았다. Cd공급군에서 고단백군의 체중증가량과 식이효율이 중단백군에 비해 높았는데 이것으로 보아 식이내 단백질 수준의 증가에 의해 성장저하가 완화된 것으로 생각된다. 그러나 단백질 종류에 따라서는 체중증가와 식이효율의 차이를 볼 수 없었는데 Fox³²⁾ 등에 의하면 casein-gelatin식을 먹인 군과 I. S.P.를 먹인 군간에 체중증가의 차이를 보이지 않았다고 한다.

빈혈은 Cd중독시 나타나는 초기증상으로 Cd은 Fe과 체내흡수과정에서 서로 경쟁하여 Fe의 흡수를 낮추므로 철분이 부족한 식이를 먹으면 Cd흡수가 증가하여 Cd중독이 촉진된다³³⁾³⁴⁾. 또한 Cd으로 간과 신장에 Fe의 양이 감소하여 체내 Fe보유량이 감소한다는 보고도 있다³²⁾. 본 실험에서 hematocrit은 각 group간에 유의적인 차이를 보이지는 않았고 Cd공급군에서 낮은 경향을 보였으나 식이단백질 수준이나 종류에 의한 영향은 받지 않았다. 동물체내에서 Cd축적량의 50~80%가 간과 신장조직에 분포되므로 Cd중독에 가장 많은 영향을 받는 기관이 간과 신장인데 이들의 무게가 Cd공급에 의해 감소한다는 보고³⁵⁾가 있다. 본 실험에서도 간과 신장의 무게는 Cd공급군들이 비공급군들에 비해 낮았고 단백질 수준의 영향을 받아 고단백군이 중단백군보다 높았다. Cd은 Ca대사에 영향을 주어 Bone mass를 변화시킨다. 또한 Cd은 2가 양이온인 Ca과 흡수단계에서 서로 경쟁하여 Ca흡수율을 감소시킨다²⁰⁾. 또한 Cd중독시 신장기능에 이상이 생겨 1.25(OH)₂D₃의 합성이 감소하여 CaBP(calcium binding protein)양이 낮아져 장내에서 Ca을 효과적으로 흡수할 수 없게 되며³⁶⁾ Ca의 재흡수가 줄고 배설이 증가한다³⁷⁾고 한다. 이 결과로 혈중 Ca농도가 낮아져서 뼈에서 Ca이 용출된다. 그리고 Cd은 mononucleated bone marrow cell을 osteoclast와 비슷한 세포로의 분화를 촉진시켜 Ca resorption이 증가되며 hydroxyapatite crystal에서 Ca대신 Cd이 뼈에 축적된다고 보고되고 있다³⁸⁾³⁹⁾.

본 실험에서도 오른쪽 대퇴골의 건조무게, 길이 및 회분량이 Cd공급군에 의해 감소되었는데 이것은 Cd공급으로 인해 bone resorption이 증가되고 뼈의 성장이 감소하였기 때문으로 생각된다. 또한 Cd공급으로 인한 대퇴골의 건조무게, 길이 및 회분량의 감소는 단백질 수준의 증가로 완화되는 경향을 보였으나 단백질 종류에 의한 영향은 받지 않았다. 대퇴골의 Cd 농도는 Cd공급으로 증가하였고 Cd공급군들중 고단백군이 높았다. 또한 단백질 종류에 의한 영향을 받아 I.S.P.군이 casein군보

다 높았는데 이것은 I.S.P.내에 들어있는 phytate⁴⁰⁾에 의해 Ca 흡수가 감소되어 뼈에서 용출되는 Ca량이 많아져 Ca대신 뼈에 축적되는 Cd의 양이 증가했기 때문으로 생각된다.

Cd은 미량 중금속으로 비교적 유독한 것으로만 알려졌을 뿐 그 기능과 대사는 확실히 밝혀지지 않았다. Cd은 쉽게 배설되지 않으며 생물학적 반감기가 길므로 Cd을 non-toxic한 상태로 만드는 해독기전이 반드시 필요하다. 체내에 존재하는 free상태의 reactive intracellular Cd을 감소시킴으로 Cd의 해독작용을 한다²⁴⁾⁴¹⁾고 한다. MT는 Cd에 의해 유도 합성되고 MT에 결합되어 있는 Cd은 독성이 없는 것으로 알려져 있기 때문에 조직내 Cd농도 그 자체가 Cd중독상태를 그대로 반영하는 것은 아니다. 식이로 섭취하는 Cd의 흡수율은 1~5%로 비교적 낮는데⁶⁾ 이것은 Cd흡수과정중 mucosa에서 혈액으로의 이동이 intestinal lumen에서 mucosa로의 이동보다 매우 느리기 때문이라고 한다⁴²⁾. Mucosal cell내로 들어온 Cd는 MT와 결합하여 격리되어 있다가 일부는 혈액으로 흡수되고 일부는 mucosal cell이 박리될 때 lumen으로 다시 나가 변으로 배설된다⁶⁾. 그래서 시간이 지남에 따라 간이나 신장과는 달리 소장 Cd농도는 감소하게 된다. Zn와 Cd을 미리 공급하여 소장에서 MT합성을 유도한 후 Cd을 공급하면 Cd흡수가 감소하고 CdMT형태로 Cd을 공급하면 신장의 Cd축적이 현저하게 증가한다고 한다²⁵⁾⁴³⁾. 이것으로 보아 mucosal MT는 Cd흡수를 감소시킬 뿐 아니라 Cd-MT complex를 신장으로 운반하는 것에도 관여하는 것으로 보인다. 본 실험에서도 소장의 MT농도가 가장 높은 CdHC군에서 변으로의 Cd배설량이 많아 다른 군에 비해 Cd의 낮은 흡수율을 보였다. 이것은 casein을 높은 수준으로 공급하면 MT합성에 중요한 영향을 미치는 것으로 알려진 total sulfur amino acid함량 면에서 casein(3%)이 I.S.P.(2.3%)에 비해 다소 높아 소장의 MT합성이 촉진되었고 이로 인해 많은 양의 Cd가 MT와 결합한 상태로 있다가 mucosal cell의 박리시 변으로 배설되었고 또한 고단백식으로 인해 Cd에 의해 분해되지 못한 oligopeptide의 양이 증가하여 이들이 Cd과 결합하여 변으로의 Cd배설량을 증가시켰기 때문으로 생각된다. CdMS군에서 소장의 MT농도는 낮았으나 변으로의 Cd배설량이 높았던 것은 소장 MT가 Cd와 결합한 상태로 다량 배설되었거나 I.S.P.섭취로 인하여 phytate 또는 분해되지 못한 oligopeptide가 영향을 주어 흡수되지 못한 Cd가 다량 배설되었을 것으로 보이나 본 실험 결과로는 명백하게 설명할 수 없었다.

소장에서 흡수된 Cd은 CdMT나 Cd-albumin형태로

혈액으로 방출되는데 Cd-MT는 신장의 사구체를 쉽게 통과하여 proximal tubular cell로 uptake되고 Cd-albumin은 간으로 흡수된다. 그리고 간으로 흡수된 Cd는 MT와 결합하여 신장으로 운반되기 위해 혈중으로 나오므로 혈액에 존재하는 Cd은 소장에서 흡수된 것과 간 및 기타조직으로부터 유래된 것으로 구성되어 있다⁴⁴⁾. 특히 만성적인 Cd중독시 혈중 Cd의 상당량이 간에서 유래한다는 보고⁴⁵⁾가 있다. 그러나 본 실험에서는 간과 혈액의 Cd농도사이에 일정한 경향은 보이지 않았다.

간은 Cd의 노출경로에 관계없이 몸에서 Cd축적이 첫 번째로 되는 기관으로 Cd에 의해 가장 먼저 독성을 일으키기 쉽다⁴⁶⁾. 혈액으로부터 간으로 흡수된 Cd는 MT와 결합하여 존재하는데 간에서 MT와 결합하지 않은 free ion상태의 Cd이 간에서 일어나는 단백질 합성에 많은 영향을 주는 것으로 보고되고 있어 조직내 Cd의 절대량보다는 조직내 존재하는 Cd의 형태가 더 중요하다고 볼 수 있다. 본 실험결과 간의 Cd농도가 단백질 수준이 높을 때 증가한다는 Revis의 연구¹⁹⁾결과와는 달리 단백질 수준에 의해서는 영향을 받지 않았고 단백질 종류에 의한 영향을 받아 casein 공급군이 I.S.P.공급군에 비해 더 높았다. 그런데 여기에 상응하게 간의 MT농도도 casein공급군이 더 높아 특히 CdMC군에서 이 현상이 뚜렷하게 나타났다. 간이나 소장으로부터 방출된 CdMT는 신장으로 흡수되어 사구체를 통해 여과된 후 pinocytosis에 의해 재흡수되어 tubular cell의 lysosome에서 Cd과 MT로 분해된다. 분해된 free Cd는 재합성된 MT와 결합하는데¹⁸⁾ 만약 tubular cell에서 free Cd와 결합할 MT를 충분히 생성하지 못하면 이것으로 인해 신장에 손상을 가져오게 된다. 따라서 Cd에 의해 신장이 손상이 손상을 입지 않기 위해서는 tubular cell에서 계속적으로 MT를 재합성해야 한다. Gunn⁴⁷⁾ 등에 의하면 신장의 Cd은 cortex에 선택적으로 축적이 되며 그 축적정도가 단백질 수준이 높을수록 나이가 많을수록 크다고 하였다. 그러나 본 실험결과 Cd을 공급받은 동물들에서 신장의 Cd농도는 군간에 차이가 없었는데 이것은 단백질 섭취가 부족하지 않은 상태에서는 식이단백질 수준이나 종류에 따른 영향은 나타나지 않는 것으로 보인다. 신장내에 CdMT량이 많을 경우 혈액의 CdMT는 신장으로 재흡수되지 못하고 뇨로 배설되므로 신장의 Cd과 MT함량이 높으면 뇨로의 Cd배설량이 증가할 것이다. 그러나 신장의 tubular에 손상받으면 뇨로의 Cd배설이 증가되고 신장의 Cd농도가 감소하게 된다고 한다⁴⁸⁾. 본 실험에서는 신장의 CdMT농도와 뇨로의 배설사이에 일정한 경향을 보이지

는 않았다. 오히려 뇨로의 Cd배설량이 가장 높은 CdHC군에서 신장의 Cd농도가 낮았으나 신장의 tubular 손상시 증가되는 뇨단백질 배설량은 Cd공급에 의해 영향을 받지 않았으므로 CdHC군의 뇨로의 높은 Cd배설량과 신장의 낮은 Cd농도에 의해 신장의 tubular가 손상을 받았기 때문이라고 볼 수 없다. Revis 등¹⁹⁾에 의하면 MT농도가 단백질 수준이 높을수록 cysteine함량이 많을수록 증가하는데 신장과 소장에서는 고단백군이 높게 나타났고 cysteine함량면에서 3배의 차이가 나는 casein(0.4%)군과 I.S.P.(1.1%)군간에만, 신장 및 소장의 MT농도는 유의적인 차이는 나지 않았지만 casein군이 I.S.P.군보다 다소 높은 경향을 보였다. 이것은 methionine이 cysteine으로 전환될 수 있으므로 total sulfur amino acid의 함량면에서 casein(3%)군이 I.S.P.(2.3%)군에 비해 약간 높았기 때문으로 생각된다. 변으로의 1일 Cd배설량은 casein을 높은 수준으로 공급한 군(CdHC)에서 가장 높아 이군의 Cd흡수율과 보유율이 가장 낮았다. Soy protein의 주성분인 glycinin의 소화단계에서 생성된 oligopeptide들이 Cd과 흡착하는 능력이 크므로 고I.S.P.공급군(CdHS)에서 변으로의 배설량이 많을 것으로 예상했으나 기대했던 효과를 볼 수 없었다. 그러나 고단백군에서 casein군과 I.S.P.군간의 Cd흡수율과 보유율이 casein군에 비해 현저히 낮아 I.S.P.군의 혈액, 간의 Cd농도가 casein 군보다 낮았다. 이것은 식이단백질을 15%정도로 공급하였을 때는 Cd흡수율과 보유율이 단백질 종류의 영향을 받지만 단백질을 높은 수준으로 공급하면 고단백 식이에 의해 oligopeptide양이 증가하여 장내 Cd의 흡수를 감소시킨다는 보고¹⁶⁾⁴⁹⁾에서 짐작할 수 있는 바와 같이 단백질 종류에 따른 효과보다는 수준의 영향을 더 많이 받는 것으로 보인다. Cd은 신장의 tubular cell에 먼저 영향을 미치고 2차적으로 사구체 손상을 일으킨다고 한다⁴⁸⁾. 따라서 Cd에 만성적으로 노출되면 신장의 tubular cell에 이상이 생겨 뇨로의 단백질 배설이 늘어나고 사구체가 손상되어 혈액의 creatinine농도가 증가하고 뇨의 creatinine농도가 감소하여 사구체 여과율이 감소하게 된다고 알려져 있다¹²⁾. 그러나 본 실험에서는 뇨로의 단백질 배설량과 사구체 여과율이 Cd공급유무에 따른 차이가 없어 신장의 tubular와 사구체가 Cd에 의해 손상을 입지 않은 것으로 보인다.

Cd, Zn, Cu는 흡수단계에서 비슷한 형태의 chelate를 형성하며 sulfhydryl group과 같은 ligand에 유사한 친화성을 가지기 때문에 흡수시 서로 경쟁하게 된다¹¹⁾. I.S.P.이 Fe, Zn의 흡수를 감소시킨다는 보고도 있지만

I.S.P.의 주성분인 glycinin이 Cd의 흡수를 감소시켜 체내의 Cd량을 감소시킨다는 연구도 있다¹⁶⁾. 그래서 본 연구에서는 I.S.P.가 casein에 비해 Cd를 선택적으로 배설시키는 효과가 있는지 알아보기 위해 Zn과 Cu의 흡수율을 살펴보았다. 본 실험결과 Zn의 경우 유의적인 차이를 보이지 않았지만 Cu와 비슷하게 Cd비공급군보다는 공급군에서 단백질 수준이 높고 I.S.P.를 공급한 군에서 흡수율이 낮았다. 그러나 Cd흡수율은 고단백군이 다소 낮았고 중단백군에서 I.S.P. 군이 casein군보다 낮았으나 실험군간에 유의적인 차이가 없어서 I.S.P.가 Cd를 선택적으로 배설시킨다고 분명하게 말할 수는 없다.

결 론

본 연구에서는 식이 단백질 수준과 종류가 식이를 통해 Cd를 공급하였을 때 흰쥐의 Cd중독에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 앞에서의 결과를 종합해 볼 때 식이내 단백질 수준은 Cd대사에 영향을 미쳐 고단백군이 중단백군에 비해 체중증가량, 식이효율, MT농도가 높았으며 Cd흡수율과 보유율이 낮아 고단백군에서 Cd중독이 완화되는 효과가 있었다. 한편, 단백질 종류가 Cd중독에 미치는 영향은 단백질 수준에 따라 달라 식이단백질을 15%수준으로 공급하였을 때 I.S.P.군의 Cd흡수율과 보유율이 casein군에 비해 현저히 낮아 I.S.P.군의 혈액, 간의 Cd농도가 낮은 경향을 보이기는 하였지만 I.S.P.군의 체중증가량과 식이효율은 casein군에 비해 다소 낮았다. 그러나 식이내 단백질을 40%수준으로 공급하였을 때 두 단백질군의 Cd대사간에 큰 차이를 볼 수 없어 단백질 수준이 높을 때는 단백질 종류가 Cd중독에 큰 영향을 주지 않는 것으로 보인다.

Literature cited

- 1) Page, AL, Chang AC. Cadmium. pp.33-75, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 1986
- 2) Friberg L, Elinder C-G, Kjellstrom T, Nordberg GF, eds. Cadmium and health : A Toxicological and Epidemiological Appraisal, Vol, Exposure Dose and Metabolism, Boca Raton, FL, CRC Press, 1985
- 3) Piscator M. Dietary exposure to cadmium and health effect : impact of environmental changes. *Environ Health Perspect* 63 : 127-132, 1985
- 4) Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. *WHO Tech Rep Ser* 505 : 20-24, 1972
- 5) 이서래. 식품의 안정성 연구, 제 4 장, 이화여자대학교 출판

- 부, 서울, 1993
- 6) Min K, Fujita Y, Onosaka S, Tanaka K. Role of intestinal metallothionein in absorption and distribution of orally administered cadmium. *Toxicol Appl Pharmacol* 109 : 7-16, 1991
- 7) Cotzias GC, Borg DC, Selleck B. Virtual absence of turnover in cadmium metabolism : Cd studies in the mouse. *Am J Physiol* 201 : 927-930, 1961
- 8) Margoshes M, Vallee BL. A cadmium protein from equine kidney cortex. *J Amer Chem Soc* 79 : 4813-4814, 1957
- 9) Kagi JHR, Schaffer JA. Biochemistry of metallothionein. *Biochemistry* 27 : 8509-8515, 1988
- 10) Piotrowski JK, Szymanska JA. Influence of certain metals on the level of metallothionein-like proteins in the liver and kidney rats. *J Toxicol Environ Hlth* 1 : 99-1002, 1978
- 11) Hill CH, Martrone G, Payne WL, Barber CW. In vivo interactions of cadmium with copper, Zinc and iron. *J Nutr* 80 : 227-235, 1963
- 12) Fowler BA, Nordberg GF. The renal toxicity of cadmium metallothionein : Morphometric and X-ray microanalytical studies. *Toxicol Appl Pharmacol* 46 : 609-623, 1978
- 13) Mustafa MG, Cross CE. *Biochemistry* 10 : 4176-4185, 1972
- 14) Cousins RJ. *J inherited Metab Dis*. 6(spl. 1) : 15-21, 1983
- 15) Lee HY, Kim MK. Effect of dietary cadmium and protein levels on the body protein metabolism and cadmium toxicity in growing rats. *Korean J Nutr* 21(6) : 27-37, 1988
- 16) Kojima S, Kiozumi M, Mishima M, Honda T, Nakagawa M. Effects of three proteins on absorption of cadmium in rats. *Toxicology* 34 : 161-171, 1985
- 17) 권오관. 식이단백질과 Calcium수준이 흰쥐의 Cadmium 중독 및 해독에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25(5) : 360-378, 1992
- 18) Squibb KS, Pritchard JB, Fowler BA. Renal metabolism and toxicity of metallothionein In : Foulkes EC ed : Biological roles of metallothionein. pp.181-192, Elsevier North-Holland, New York, 1982
- 19) Revis NW, Osborne TR. Dietary protein effect on cadmium and metallothionein accumulation in the liver and kidney of rats. *Environ Health Perspect* 54 : 83-91, 1984
- 20) 배계현. 식이내 Calcium 수준이 흰쥐의 Cadmium 중독에 미치는 영향. 이화여대 석사학위 청구논문, 1989
- 21) Zinterhofer LTM, Jotolow PT, Fappiano A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78 : 664, 1971
- 22) Yeager DW, Cholak J, Henderson EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometry. *Environmental Science and technology* 5 : 1020, 1971
- 23) Eaton DL, Toal BF. Evaluation of the Cd/Hb affinity assay for the rapid determination of metallothionein in bio-

- logical tissue. *Toxicol Appl Pharmacol* 66 : 134-142, 1982
- 24) Groten JP, Sinkeldam EJ, Luten JB, Van Blarderen PJ. Cadmium accumulation and metallothionein concentrations after 4-week dietary exposure to cadmium chloride or cadmium-metallothionein in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 111 : 504-513, 1991
 - 25) Onosaka S, Cherian MG. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods. *Toxicol Appl Pharmacol* 63 : 270-274, 1982
 - 26) Lowry OH, Resebrough NJ, Farr AC, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry* 193 : 265-275, 1951
 - 27) Oser BL. Haw's physiological chemistry, pp.1040, 4th edition, McGraw-Hill Book, New York, 1965
 - 28) 이귀녕 · 김진규. 임상의학. pp. 72, 의학출판사, 서울, 1988
 - 29) Webb M, Cain K. Function of metallothionein. *Biochem Pharmacol* 31 : 137-142, 1982
 - 30) Suzuki KT, Yaguchi K, Ohnuki R, Nishikawa M, Yamada YK. Extent of cadmium accumulation and its effect on essential metal in liver, kidney and body fluids. *J Toxicol Environ Health* 11 : 713-726, 1983
 - 31) Julshamn K, Vtne F, Brackkan OR. Interactions of cadmium with copper, zinc and iron in different organs and tissues of the rat. *Acta Pharmacol et Toxicol* 41 : 515-524, 1977
 - 32) Fox MRS, Jacobs RM, Jones AOE, Fry BE. Effects of nutritional factors on metabolism of dietary cadmium at levels similar to those of man. *Environ Health Perspect* 28 : 107-114, 1979
 - 33) Hamilton DL, Valberg LS. Relationship between cadmium and iron absorption. *Am J Physiol* 227 : 1033-1037, 1974
 - 34) Valberg LS, Sorbe DL, Hemilton DL. Gastrointestinal metabolism of cadmium experimental iron deficiency. *Am J Physiol* 231 : 462-467, 1976
 - 35) Faeder EJ, Chaney SQ, King LC, Hinners TA, Bruce R, Fowler BA. Biochemical and ultrastructural change in livers of cadmium-treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 39 : 473-487, 1977
 - 36) Krejs GJ, Nicar MJ, Zerwekh JE. Effect of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ on calcium and magnesium absorption in the healthy human jejunum and ileum. *Am J Med* 75 : 973-976, 1983
 - 37) Kawamura J, Yoshida O, Nishino K, Itokawa Y. Disturbances in kidney functions and calcium and phosphate metabolism in cadmium-poisoned rats. *Nephron* 20 : 101-110, 1978
 - 38) Bhattacharyya MH. Cadmium-induced bone loss : Increased susceptibility in females. *Int J Environ Pollution* 57/58 : 665-671, 1991
 - 39) Christoffersen J, Christoffersen MR, Larsen R, Rostrop E, Tingsgaard P, Andersen O, Grandjean P. Interaction of cadmium ions with calcium hydroxyapatite crystals : A possible mechanism contributing to the pathogenesis of cadmium-induced bone disease. *Calcif Tissue Int* 42 : 331-339, 1988
 - 40) Zhou Jr. Reduction of phytic acid in soybean products improves Zinc bioavailability in rats. *J Nutr Dec*:122(12) : 2466-2473, 1992
 - 41) Din WS, Fraizer JM. Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocyte. *Biochem J* 230:395-402, 1985
 - 42) Ohta H, Deahgelis MV, Cherian MG. Uptake of cadmium and metallothionein by rat everted intestinal sacs. *Toxicol Appl Pharmacol* 101 : 62-69, 1989
 - 43) Sugawa N, Sugawara C. Role of mucosal metallothionein preinduced by oral Cd or Zn on the intestinal absorption of a subsequent Cd dose. *Bull Environ Contam Toxicol* 38 : 295-299, 1987
 - 44) Nordberg GF, Piscator M, Nordberg M. On the distribution of cadmium in blood. *Acta Pharmacol Toxicol* 30 : 289-295, 1971
 - 45) Chan HM, Zhu LF, ZhongR, Grant D, Goyer RA, Cherian MG. Nephrotoxicity in rat following liver transplantation from cadmium-exposed rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 123 : 89-96, 1993
 - 46) Fraizer JM, Puglese J. Dose dependence of cadmium kinetics in the rat liver following intravenous injection. *Toxicol Appl Pharmacol* 43 : 461-474, 1978
 - 47) Gunn SA, Gould TC. Selective accumulation of Cd By cortex of rat kidney. *Proc Soc Exp Biol Med* 96 : 820-823, 1957
 - 48) Axelsson B, Piscator M. Renal damage after prolonged exposure to cadmium. *Archs Envir Hlth* 12 : 360-373, 1966
 - 49) Omori M, Muto Y. Effect of dietary protein, calcium, phosphorus and fiber on the renal accumulation of exogenous cadmium in young rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 23 : 361-373, 1977
 - 50) Hisayasu S, Orimo H, Migita S, Ikeda Y, Satoh K, Shinjo S, Hirai Y, Yoshine Y. Soybean protein isolate and soybean letin inhibit iron absorption in rats. *J Nutr May*: 122(5) : 1190-1196, 1992