

천화분의 카드뮴에 대한 독성억제효과(III)

이정호 · 유일수¹ · 김신기² · 이기남³ · 정우영⁴ · 한두석⁴ · 백승화*

[#]원광대학교 한의학전문대학원 천연물학교실, ³산업한의학교실,

⁴치과대학 구강해부학교실, ¹익산대학 공업화학과, ²환경원예과

The Inhibitory Effects of *Trichosanthes kirilowii* Root against Cadmium Induced Cytotoxicity (III)

Jeong Ho Lee, Il Soo You¹, Shin Kee Kim², Ki Nam Lee³, Du Seok Han,
⁴Woo Young Chung⁴ and Seung Hwa Baek*

[#]Department of Natural Products, and ³Department of Industrial Oriental Medicine,
Professional Graduate School of Oriental Medicine and

⁴Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

¹Department of Industrial Chemistry and ²Department of Environmental Horticulture,
Iksan College, Iksan 570-110, Korea

Abstract – This study was conducted to investigate the antitoxic components in the water extract of the roots of *Trichosanthes kirilowii* (Cucurbitaceae). The results were as follows: Generally, detoxication effects by the water extract of *T. kirilowii* increased in proportion to the concentrations. Experimental animals were treated with cadmium and *T. kirilowii* water extract by oral administration. When 40 mg/kg dosage of *T. kirilowii* extract was administrated it showed the highest antitoxic effects in metallothionein induction. After the water extract treatment, body weights did not increase in proportion to the extract concentrations. These results suggest that *T. kirilowii* extract increased metallothionein concentration and decreased the toxicity of cadmium in rats. *In vitro* the antitoxic activity of water extract of *T. kirilowii* on NIH 3T3 fibroblasts was evaluated by the MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) and SRB (sulforhodamine B protein) assays. The light microscopic study was carried out to observe morphological changes of the treated cells. These results were obtained as follows; The concentration of 10⁻² mg/ml of *T. kirilowii* extract was shown significant antitoxic activity. The number of NIH 3T3 fibroblasts were increased and tend to regenerate. These results suggest that *T. kirilowii* extract retains a potential antitoxic activity.

Key words – *Trichosanthes kirilowii* root, Antitoxic agent, Cadmium, Rat, Metallothionein, MTT assay, SRB assay.

하늘타리(*Trichosanthes kirilowii* Maxim., Cucurbitaceae)는 동남아 일대 및 우리나라 전역, 특히 제주도 의 수립(樹林)에 많이 자생하는 다년생 초본식물이다.¹⁾ 하늘타리는 7~8월에 흰색으로 개화하며, 10월에 타원형의 황색과실이 열리고, 줄기는 덩굴이며, 뿌리는 굵

고 크고, 잎은 5개로 심장모양이다.²⁾ 하늘타리의 뿌리를 천화분(*Trichosanthis Radix*) 또는 팔루근이라 하며, 봄과 가을에 캐어 길쭉질을 벗겨 햇볕에 건조하는데, 이 천화분은 전분을 많이 함유하고 있으며, 익은 씨를 팔루인(*Semen Trichosanthis*)이라 한다.^{3,5)} 천화분은 과거 민간에서는 항소갈작용에 이용되었으며, 청열 지갈작용과 배농, 염증, 진해, 당뇨병, 해열, 이뇨, 변

*교신저자 : Fax : 063-841-4893

비에 효과가 있으며,^{3,5)} 팔루인은 염증, 폐병, 기침, 천식, 창종, 해열, 중풍 등에 효과가 있다.^{2,3)}

카드뮴의 중독 증상은 신장기능, 중추신경장애, 골변화증, 근육통, 고혈압, 호흡곤란 등을 유발하는 것으로 보고되고 있다.^{6,7)} MT(metallothionein)는 cysteine을 다량 함유한 저분자량의 금속결합단백질로서 카드뮴, 아연, 구리, 수은 등의 중금속 및 비금속성 물질인 glucocorticoid, lipopolysaccharide, turpentine oil 등에 의하여 유도 합성되며, 중금속 물질과 결합하여 세포 밖으로 배출시켜 세포의 독성을 경감시킨다.⁷⁾ 최근에 이 등은⁸⁾ 흰쥐에게 카드뮴 경구투여시, 천화분메탄을 추출물의 경구 투여용량이 증가함에 따라 조직내의 카드뮴량이 유의하게 감소하는 경향을 보여 주었으며, MT량은 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 흰쥐의 체중변화도 증가하는 경향으로 카드뮴의 독성이 완화되는 경향을 보였다.^{8,9)} 이에 본 연구는 천화분을 물로 추출하여 카드뮴에 중독된 흰쥐에게 경구 투여한 후, 조직내 카드뮴의 농도와 MT농도 및 체중변화를 측정하여 카드뮴 독성에 대한 경감효과를 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 천화분은 1998년 8월 전북 원주군 삼례 한약상에서 구입하여 외부형태를 비교 조사하여 확인 후 사용하였다. 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 한의학전문대학원 천연물학교실에 보관되어 있다.

실험동물 - 실험에 사용된 동물은 원광대학교 의과대학 실험동물 사육장에서 사육한 생후 6~8주 정도의 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷(180±15 g)을 사용하였으며, 실험시작 1주전부터 안정화 시켰고, 사육은 온도 22±2°C, 습도는 50±10%의 동물사육실에서 흰쥐용 깔집을 깔고 1군당 5마리씩으로 하였으며, 2개군은 대조군과 카드뮴 대조군, 3개군은 실험군으로 총 25마리를 사육하였다. 고령 pellet사료 (삼양유지)와 음용수는 자유롭게 섭취할 수 있도록 충분히 공급하였으며, 사육기간은 4주로 하였다.

검액의 조제 - 본 연구에 사용된 생약재인 천화분은 전북 원주군 삼례 한약상에서 구입하여, 천화분을 마쇄하여 500 g을 5,000 ml 등근플라스크에 물 2500 ml를 넣고, 75°C에서 4시간 동안 환류 추출하였다. 이와 같이 세 번 반복하여 얻은 추출물을 여과지

(Whatman Co., 4 μm)로 여과한 후, 진공농축기로 50°C에서 감압 농축하여 물 추출물 106.78 g(21.36%)을 얻었다. 이 추출물을 필요에 따라 회석하여 사용하였다.

시약 및 기기 - 천화분 추출에 사용된 용매로는 3차 증류수를 사용하였으며, 흰쥐 신장과 간장내의 카드뮴 함량 분석을 위하여 투여한 CdCl₂는 GR급을 사용하였고, Cd표준용액(CdCl₂)은 Sigma제를 사용하였다. 전처리에 사용된 초자기구는 질산으로 세척하여 중금속을 완전히 제거한 후 사용하였으며, 분석용 기기는 원자흡광광도계(Hitachi Z-5700)을 사용하였다.

세포배양에 사용한 MEM(Minimum Essential Medium), fetal bovine serum, Penicillin G, Streptomycin, Fungizone 시약은 Gibco제 GR급이었으며, MTT 정량 및 SRB정량에 사용한 시약은 Sigma사에서 구입하였다. 세포의 배양은 CO₂ incubator(Shellab Co., U.S.A.)를 사용하였고, 세포수의 계산은 Turk형 혈구계산기를 사용하였으며, 현미경은 도립현미경(Inverted Microscope, Olympus)을 사용하였다. MTT정량 및 SRB정량은 ELISA reader(Spectra Max 250, U.S.A.)를 사용하였다.

카드뮴 및 천화분 추출액 투여 - 실험에 사용한 중금속은 cadmium chloride(CdCl₂; Sigma제 GR급)이며, 천화분 물 추출물을 흰쥐 구강내 투여 용량은 Table I과 같이 5개군으로 구분하였으며, 1군당 5마리씩으로 실험하였다.¹⁰⁾

흰쥐 장기내의 카드뮴의 농도 측정 - 실험 24시간 전부터 절식시킨 흰쥐를 에테르로 마취시키고, 신장과 간장을 적출하여 3차 증류수로 3회 세척하여, 진공건조기(110°C)내에서 24시간 건조시킨 후, 200°C hot plate상에서 각각 질산, 황산, 및 과염소산을 이용한 습식산화방법에 의하여 유기물을 분해시키고, 25%의 ammonium citrate-용액 10 ml와 0.1% bromothymol

Table II. Dosage contents of cadmium and water extract of *T. kirilowii* in rats

Group No.	Cd dosage (mg/kg)	<i>T. kirilowii</i> (mg/kg)
Group 1 (control)	0	0
Group 2	4	0
Group 3	4	10
Group 4	4	20
Group 5	4	40

Experimental animals were treated with cadmium and *T. kirilowii* water extract by oral administration.

blue(BTB) indicator 용액을 2~3방울 넣고, 용액의 색이 황색에서 녹색으로 변할 때까지 ammonium hydroxide 용액으로 중화시켰다. 여기에 10 ml의 40% ammonium sulfate 용액과 10 ml의 sodium diethyl dithiocarbamate(DDTC) 용액을 넣고 세차게 흔든 후 수분간 방치한 다음, 20 ml의 methyl isobutyl ketone (MIBK)을 가하고 흔든 후 방치한 다음, MIBK층을 취하여 120°C hot plate상에서 휘산시켜 0.1N HCl로 용해한 후, wave length 228.8 nm, slit path 1.3 nm, lamp current 9 nm의 분석조건하에서 원자흡광도계를 이용하여 장기내의 카드뮴 함량을 측정하였다.

흰쥐 장기내의 metallothionein의 농도 측정 - 조직중의 metallothionein(MT)은 간과 신장조직을 0.5 g 취하여 생리적 식염수로 세척한 다음, 0.25 M 설탕 용액을 가하면서 Teflon glass homogenizer를 이용하여 조직이 균질화 되도록 하였으며, 4°C에서 20분간 원심분리하여 세포질액을 얻었다. 세포질액 0.2 ml를 0.03 M Tris-HCl(pH 8.0) 완충용액에 첨가한 후, 10 ppm의 CdCl₂(standard solution) 1 ml로 포화시키고, 실온에서 5분간 배양하였다. 여기에 rat RBC hemolysate 0.2 ml를 가하여 과량의 카드뮴과 MT이외의 모든 bioligand를 제거하고, 100°C 수욕탕에 1분간 정지시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 원심분리하여 상층액을 취하였다. 이와같이 rat RBC hemolysate첨가와 열처리 및 원심분리 과정을 3회 반복하여, MT 분획층을 분리하여 측정하였다. 최종적인 MT농도 계산은 원자흡광도계에 의해 검출된 카드뮴의 양을 기초로, MT분자량 6,050 g 당 카드뮴 6 g 원자가 포함되는 것으로 환산하여 조직 µg 당 mgMT 농도를 표시하였다.

체중측정 - 모든 동물에 대해서 시험개시일로부터 시험종료일까지 매주 2회 측정하였다.

시료의 처리 - 조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였다가 사용직전에 배지로 희석하여 10⁻²~10⁻⁵ mg/ml 농도를 실험에 사용하였다.

세포배양 - 천화분 추출물에 대한 해독작용을 측정하기 위하여 NIH 3T3 섬유모세포를 사용하였다. 배양액으로는 MEM(Gibco, U.S.A.)에 10% fetal bovine serum(Gibco, U.S.A.)과 Penicillin G(25 unit/ml), Streptomycin(0.25 µg/ml)를 첨가하여 사용하였다. 각 세포의 배양은 온도 37°C, 습도 95%, 탄산가스 농도 5%의 배양기(CO₂ incubator, Shellab, U.S.A.)를 사용하였다. 실험을 위하여 배양한 flask의 세포를 0.25%

trypsin으로 처리하여, Turk형 혈구계산기를 이용하여 세포수가 5×10⁴ cells/ml가 되도록 세포부유액을 만들었다.

MTT 정량분석법 - Mosmann의 방법¹¹⁾에 따라 세포를 5×10⁴ cells/well이 되도록 조절하여 1 ml씩 24 well plate에 분주하고 24시간 배양하였다. NIH 3T3 섬유세포에 대한 카드뮴의 MTT50(midpoint inhibition value) 농도를 결정하였다. 수복효과 실험은 6개군으로 구분하였는데, 배양액만으로 배양한 군을 대조군, MTT50량의 카드뮴과 배양액으로 배양한 군을 MTT50군, MTT50량과 각각의 천화분 물 추출물의 10⁻²~10⁻⁵ mg/ml 농도를 배양액에 넣어 배양한 군은 실험군으로 하여 48시간 동안 배양 완료 후 분석당일 조제한 MTT(Sigma) 50 µg/ml가 함유된 배양액을 well당 1 ml씩 넣어 3시간 배양하였다. 배양 후 배양액을 버리고 dimethylsulfoxide(DMSO)를 2 ml/well씩 넣어 5분간 실온 방치 후, MTT formazan을 용해한 후 분광광도계 ELISA reader(520 nm)로 흡광도를 측정하여 MTT50군과 비교하였다.

SRB 정량 분석법 - Skehan 등¹²⁾의 방법에 따라, 세포를 5×10⁴ cells/well이 되도록 조절하여 1 ml씩 24 well plate에 분주하고 24시간 배양하였다. NIH 3T3 섬유모세포에 대한 카드뮴의 SRB50 농도를 결정하였다. MTT 정량의 방법과 동일하게 대조군, SRB50군 및 실험군으로 하여 천화분 물 추출물이 첨가된 배양액에서 48시간 배양한 후, 배양액을 버리고 5회 세척한 후, 0.4% sulforhodamine B를 200 µl씩 첨가하여 1시간 동안 실온에 방치한 다음, 1.0% acetic acid로 5회 세척하고 완전히 건조하였다. 10 nM Tris base로 결합된 protein stain을 녹인 후, 흡광도는 분광광도계 ELISA reader(520 nm)로 측정하여 SRB50군과 비교하였다.

세포의 광학현미경적 관찰 - 광학현미경으로 세포를 관찰하기 위하여, NIH 3T3 섬유모세포는 MTT정량 및 SRB정량을 하기 전에 도립현미경으로 관찰하고, 사진을 촬영하였다.

통계학적 해석 - 실험결과의 통계학적처리는 Student's t-test를 이용하였으며, p-value가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

흰쥐 신장내 cadmium 농도 - 흰쥐에게 카드뮴 농

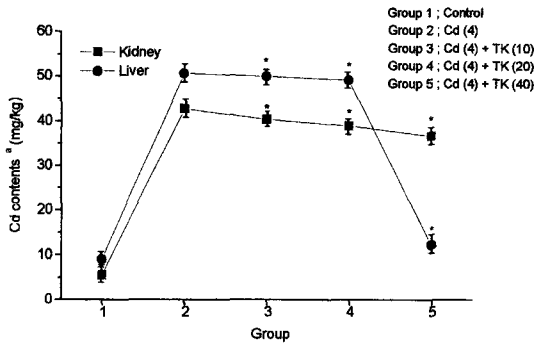


Fig 1. Contents of cadmium in kidney and liver of rats orally treated with the water extract of *T. kirilowii* (TK). ^aThe values represent the mean \pm standard deviations for five experiments. Experimental animals were treated with cadmium and water extract of *T. kirilowii* by oral administration. Significantly different from the control values: * $p < 0.05$ (Student's *t*-test).

도를 4 mg/kg와 천화분의 물 추출물을 경구 투여시킨 후, 각 실험군의 흰쥐 신장내의 카드뮴의 농도는 Fig. 1과 같다. 카드뮴과 천화분 물 추출물을 투여하지 않은 군에서 카드뮴의 농도는 5.50 ± 1.50 mg/kg으로 낮게 나타났다. 이 함량은 실험결과에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다. 카드뮴 대조군의 농도는 42.72 ± 0.57 mg/kg 으로 나타났다. 천화분의 물 추출물의 경구 투여농도가 증가할수록 흰쥐 신장내 카드뮴의 농도가 저하된 것을 알 수 있다. 천화분 물 추출물의 경구 투여용량이 10 mg/kg에서 40.30 ± 2.79 mg/kg(93.34%)와 20 mg/kg에서 38.90 ± 5.30 mg/kg(91.06%)로 신장내 카드뮴 독성에 대한 경감효과가 크게 나타나지는 않았으며, 투여농도가 40 mg/kg에서도 36.71 ± 4.26 mg/kg (85.93%)으로 이는 천화분 메탄올 추출물의 경구 투여시 신장내 카드뮴 독성에 대한 경감효과(78.94%)와 큰 차이가 없었다.¹³⁾

흰쥐 간장내 cadmium 농도 - 흰쥐에게 카드뮴 농도를 4 mg/kg과 천화분의 물 추출물을 경구 투여시킨 후, 흰쥐 간장내 카드뮴 농도는 Fig. 1과 같다. 카드뮴과 천화분의 물 추출물을 투여하지 않은 군에서 카드뮴의 농도는 9.00 ± 5.80 mg/kg으로 나타났으나, 이 함량은 실험결과에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다. 간장내 카드뮴 농도를 비교해보면, 천화분 물 추출물의 경구 투여용량이 40 mg/kg에서 12.24 ± 0.52 mg/kg(24.19%)으로 우수하게 카드뮴에 대한 독성경감효과가 나타났다. 이 결과는 천화분의 물 추출물이 체내 흡수된 카드뮴의 배설을 촉진시켰기 때문

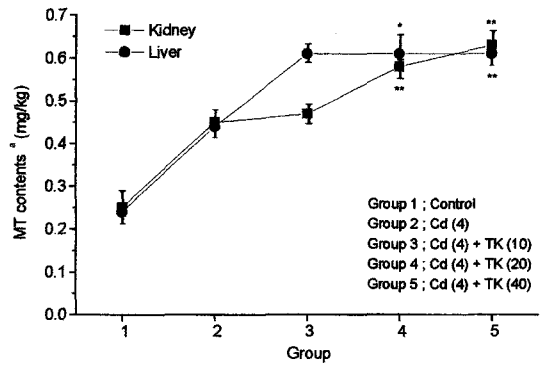


Fig 2. Contents of metallothionein in kidney and liver of rats orally treated with the water extract of *T. kirilowii* (TK). ^aThe values represent the mean \pm standard deviations for five experiments. Experimental animals were treated with cadmium and water extract of *T. kirilowii* by oral administration. Significantly different from the control values: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Student's *t*-test).

으로 생각되며,^{7,9)} 신장에서와는 달리 천화분 물 추출물의 경구 투여농도가 증가할수록 간장의 카드뮴 독성에 대한 독성경감효과가 높게 나타났다. 천화분 물 추출물의 경구 투여농도가 10 mg/kg과 20 mg/kg, 40 mg/kg에서 통계적으로 유의성($p < 0.05$)이 나타났다.⁸⁾

흰쥐 신장내 metallothionein의 농도 - 흰쥐 카드뮴 농도를 4 mg/kg과 천화분 물 추출물을 경구 투여시킨 후, 신장내 metallothionein(MT)의 농도는 Fig. 2와 같다. 카드뮴과 천화분 물 추출물을 투여하지 않은 군에서의 MT의 농도는 0.25 ± 0.09 mg/kg으로 나타났다. 천화분 물 추출물을 경구 투여를 증가시킬 때 간장내 MT형성 보다 신장에서의 MT형성이 우수하게 나타났다. 천화분 물 추출물의 경구 투여농도가 증가할수록 신장내 MT형성도 증가하는 경향을 보였으며, MT가 형성되는 기폭이 아주 우수하였고, 천화분 물 추출물의 투여 용량이 40 mg/kg에서 0.63 ± 0.01 mg/kg(40.00%)으로 가장 높게 나타났다.¹³⁾ 천화분 물 추출물의 경구 투여용량이 20 mg/kg과 40 mg/kg에서 통계적으로 유의성이 나타났다($p < 0.01$).

흰쥐 간장내 metallothionein의 농도 - 흰쥐 간장내 MT의 농도는 Fig. 2와 같다. 카드뮴과 천화분의 물 추출물을 투여하지 않은 군의 MT농도는 0.24 ± 0.04 mg/kg으로 낮게 나타났다. 천화분의 물 추출물의 경구 투여농도가 10 mg/kg 이상으로 투여농도가 증가하여도 간장내 MT형성은 0.61 mg/kg으로 나타나, 투여농도와 관계없는 것으로 나타났으며, 천화분의 물

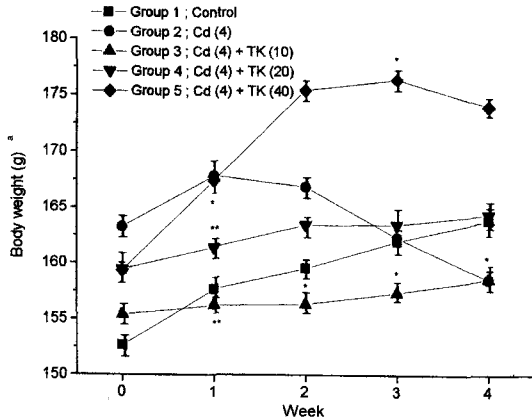


Fig 3. Body weights in rats orally treated with the water extract of *T. kirilowii* (TK). *The values represent the mean \pm standard deviations for five experiments. Experimental animals were treated with cadmium and water extract of *T. kirilowii* by oral administration. Significantly different from the control values: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Student's *t*-test).

추출물의 경구 투여농도가 20 mg/kg($p < 0.05$)과 40 mg/kg($p < 0.01$)에서 통계적으로 유의성이 나타났다.

체중변화 - 천화분 물 추출물의 농도의 증가에 대한 흰쥐의 체중변화는 Fig. 3과 같으며, 카드뮴만 경구 투여한 경우, 체중변화의 기폭은 심하게 나타나는 것을 알 수 있다. 천화분 물 추출물의 투여 농도가 20 mg/kg 이상에서 카드뮴의 독성에 대한 경감효과가 가장 우수하게 나타났으며, 천화분 물 추출물의 투여 기간이 2주 이후에 카드뮴의 독성에 대한 경감 효과가 우수하였다. 체중변화를 종합해보면, 천화분의 물 추출물을 경구 투여한 후, 2~3주까지는 카드뮴 독성에 대한 경감효과가 뚜렷하였으나, 그 이후에서는 카드뮴 독성에 대한 경감효과가 약해지는 것으로 판단된다.^{8,13)}

MTT 정량분석법 - NIH 3T3 섬유모세포를 여러 농도의 카드뮴으로 처리한 후, MTT 및 SRB의 흡광도를 측정하고, 대조군의 흡광도를 100%로 하여 마이크로몰농도에 대한 흡광도를 비례적으로 측정된 결과, MTT 및 SRB의 흡광도는 카드뮴의 농도에 의존하여 감소하였으며, IC₅₀인 MTT₅₀은 33.04 μ M 및 SRB₅₀은 54.72 μ M이었다.⁸⁾ MTT 정량분석법을 이용하여 MTT 농도를 측정된 결과, 천화분 물 추출물의 10⁻² ~ 10⁻⁴ mg/ml 농도에서 통계적으로 유의성 ($p < 0.001$)이 나타났으며, 카드뮴에 대한 독성경감효과도 각 농도에 따라 크게 증가하지는 않았다⁸⁾(Fig. 4).

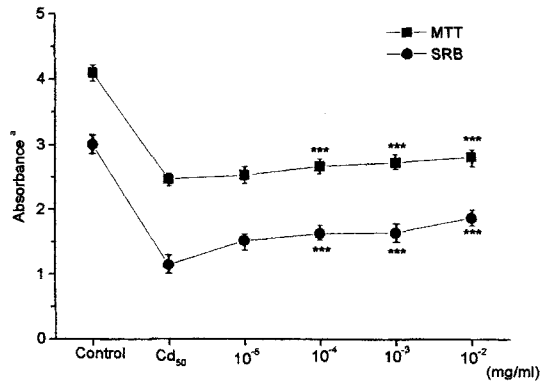


Fig 4. The MTT and SRB absorbance of water extract of *T. kirilowii* (TK) on 3T3 fibroblasts treated with cadmium (MTT₅₀, SRB₅₀). Cells were incubated for 48 hrs. The cells were harvested with trypsin-EDTA. The values represent the mean \pm standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the control value; *** $p < 0.001$ (Student's *t*-test).

SRB 정량분석법 - 핵내의 단백질인 sulforhodamine B protein량을 측정하는 방법인 SRB 정량분석법을 이용하여, SRB농도를 측정된 결과 MTT 농도에서와 같이, 천화분 물 추출물의 10⁻²~10⁻⁴ mg/ml 농도에서 통계적으로 유의성($p < 0.001$)이 나타났다. 비색분석법에 의한 천화분 물 추출물의 카드뮴에 대한 독성경감효과는 추출물의 농도증가에 따라 흡광도가 증가하며, 흡광도의 변화는 MTT정량분석법보다 SRB정량분석법이 민감하게 감소하는 경향을 볼 수 있었다.⁸⁾ 천화분 물 추출물의 SRB₅₀(Cd₅₀ 1.146 \pm 0.084 mg/kg, 38.1%) 농도가 MTT₅₀(Cd₅₀ 2.476 \pm 0.029 mg/kg, 60.4%) 농도보다 카드뮴에 대한 독성경감효과의 민감성을 나타내었으며, 추출물의 10⁻² mg/ml 농도에서 Cd₅₀에 대한 SRB 분석법으로 24.2%의 차이로 MTT 분석법의 차이보다 높게 나타남을 관찰 할 수 있었다(Fig. 4).

세포의 광학현미경적 관찰 - 세포의 광학현미경적 관찰에서는 대조군을 24시간 배양하면 well 바닥이 뚜렷한 핵을 갖는 방추형으로 단층을 이루며, NIH 3T3 섬유모세포들이 부착되어 있다(Fig. 5-1). IC₅₀ (MTT₅₀ 및 SRB₅₀)의 카드뮴을 처리한 군에서는 세포수가 감소하였고, 세포의 형태가 원형으로부터 변형되는 양상을 볼 수 있었다(Fig. 5-2). IC₅₀ 농도의 카드뮴과 천화분 물 추출물을 처리한 군에서는 IC₅₀군에 비하여 세포수가 증가하고 재생현상이 뚜렷하였다(Fig. 5-3). 천화분 물 추출물을 이용하여, 카드뮴 독성경감효과를 측정된 보고가 있어 직접적인 비교는 할

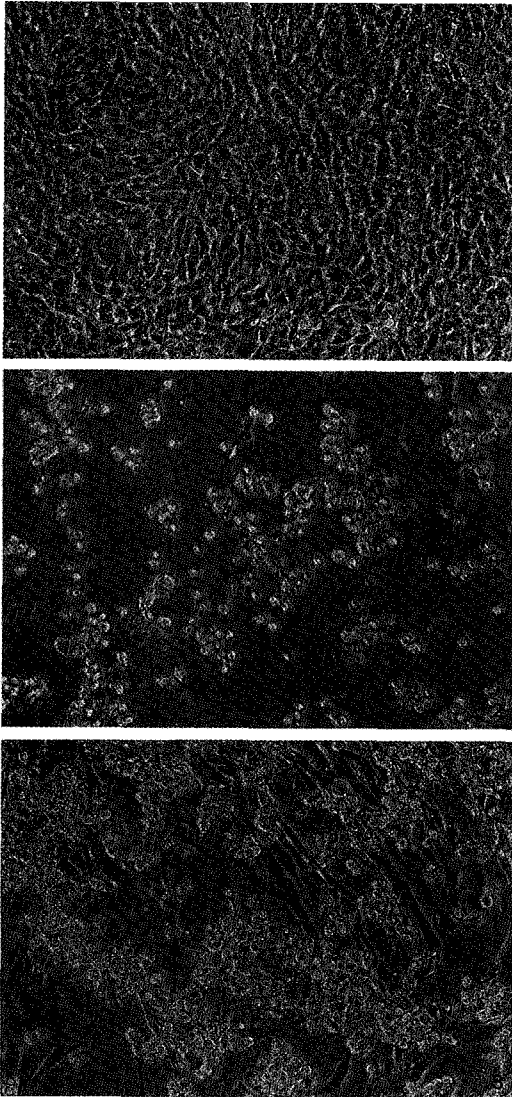


Fig 5. Inverted photomicrograph of NIH 3T3 fibroblasts treated with SRB for additional 3hrs after incubation with unmodified medium (control) for 2 days ($\times 200$). Most cells had abundant cytoplasm and showed well-spread morphology (1). Inverted photomicrograph of NIH 3T3 fibroblasts after incubation in the Cd_{50} concentration for 2 days ($\times 200$). Most cells were formed round type and number of cells were decreased (2). Inverted photomicrograph of NIH 3T3 fibroblasts after incubation in the medium containing Cd_{50} concentration plus 10^2 mg/ml concentration of *T. kirilowii* (TK) for 2 days ($\times 200$). Most cells were shown regenerative and number of cells were increased (3).

수 없으나, 본 실험결과에 의하면, 카드뮴에 대한 세포독성을 천화분 물 추출물이 억제하는 독성경감효과

가 있는 것으로 인정된다. 이에 천화분의 물 추출물의 카드뮴에 대한 해독물질이 함유되어 있을 것으로 판단되어 분광학적인 방법으로 분자구조를 규명하는 노력을 계속할 계획이다.

결 론

흰쥐에게 카드뮴 경구 투여시, 천화분 물 추출물을 경구투여한 후, 카드뮴의 독성에 대한 경감효과와 카드뮴이 NIH 3T3 섬유세포에 미치는 세포독성을 검정하고, 카드뮴 IC_{50} (MTT_{50} 및 SRB_{50})에 의하여 손상된 NIH 3T3 섬유세포의 재생효과에 대하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 흰쥐의 신장내 카드뮴 독성에 대한 경감효과는 천화분 물 추출물의 경구 투여용량이 증가함에 따라 카드뮴 독성에 대한 경감효과가 유의하게 감소하는 경향을 보여주고 있다($p < 0.05$).

2. 흰쥐의 간장내 카드뮴의 독성에 대한 경감효과는 천화분 물 추출물의 경구 투여용량의 농도가 40 mg/kg에서 12.24 mg/kg(24.19%)로 가장 우수하게 나타났으며, 신장보다도 간장에서 카드뮴 독성에 대한 경감효과가 우수하였다.

3. 흰쥐 신장과 간장내 MT농도는 높은 농도에서 높게 나타나, 카드뮴 독성에 대한 경감효과가 나타났으며, 경구 투여용량이 증가함에 따라 조직내 MT농도가 유의하게 증가하는 경향을 나타냈다($p < 0.05$, $p < 0.01$).

4. 흰쥐의 체중 변화는 천화분 물 추출물의 경구 투여용량이 증가할수록, 흰쥐의 체중변화도 증가하는 경향을 보였으나, 2-3주 이후에서는 체중변화의 증가가 거의 나타나지 않았다.

5. MTT 및 SRB분석은 배양액만으로 배양한 균을 대조군, 세포독성실험에 의하여 결정된 IC_{50} 농도의 카드뮴과 천화분 물 추출물을 배양액에 넣어 배양한 균을 실험군으로 분류하여 실험하였다. 모든 군은 동일한 조건에서 48시간 배양한 후, MTT 흡광도 및 SRB 농도를 측정하고, 광학현미경적 관찰을 실시하였다. 천화분 물 추출물이 MTT 농도 및 SRB 농도에서 정량적으로 유의성있는 독성경감효과를 나타냈으나, 농도에 따른 흡광도의 변화는 MTT 정량분석법이 SRB 정량분석법보다 민감하게 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 광학현미경적 조건에서도 세포의 재생이 뚜렷하였다.

이상과 같이 천화분 물 추출물의 경구 투여시켰을 경우 카드뮴의 독성에 대한 경감효과와 카드뮴에 의하여 손상된 NIH 3T3 섬유모세포의 재생효과가 있는 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 두뇌한국 21 지원사업과 원광대학교 교비의 일부지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Koh, J. S. (1981) A study on the utilization of *Trichosanthes kirilowii* root starch. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 24: 59-66.
2. Koh, J. S. and Kim, H. O. (1977) A study on the physicochemical properties of *Trichosanthes kirilowii* Max. starch. *J. Korea Agric. Chem. Soc.*, 20(3): 292-295.
3. 문관심 (1999) 약초의 성분과 이용, pp. 584-585. 일월서각. 서울.
4. Lim, S. J. and Choi, S. S. (1997) The Effect of *Trichosanthes kirilowii* Max. Subfractions on the insulin Activity in streptozotocin induced diabetic rats and their acute toxicity. *J. Korean Nutr. Soc.* 30(1): 25-31.
5. Chung, Y. B. and Lee, C. C. (1995): Effect of polysaccharide from *Trichosanthes kirilowii* on antidiabetic activity and glutathione metabolism in hyperglycemic rats. *Yakhak Hoeji.* 39(5): 528-534.
6. Broudreau, J., Viccent, R., Nadeau, D. and Trottier, B. (1998) Toxicity of inhaled cadimium chloride: Early response of the antioxidant and surfactant systems in rat lungs. *J. Toxicol. Environ. Health* 23: 241-256.
7. Choe, R. S. and Kim, O. Y. (1993) Localization of metallothionein induced cadmium in rat hepatocyte. *Korean J. Environ. Biol.* 11(1): 17-25.
8. Lee, J. H., You, I. S., Kim, J. S., Lee, K. N., Chung, W. Y., Han, D. S. and Beak, S. H. (2000) The inhibitory effects of *Houttuynia cordata* T_{HUNB} against cadmium induced cytotoxicity (II). *Kor. J. Pharm.* 44: 432-439.
9. Kim, Y. O., Lee, J. S., Park, K. O., Han, D. S., You, I. S., Kwak, J. S. and Baek, S. H. (1996) Development of antitoxic agents from Korean medicinal plants. Part 8. Effects of methanol fraction of *Lonicerae Flos* on the accumulation of cadmium and metallothionein in rats. *Korean J. Toxicol.* 12: 41-46.
10. Lee, J. S., Park, K. O. and Lee, J. M. (1996) A study on the effects of *Radix Menispermis* extracts against cadmium chloride sub-chronic toxicity in rats. *Korean J. Toxicol.* 12: 59-68.
11. Mosmann, T. (1978) Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* 65: 55-63.
12. Skehan, P., Storeng, S., Studiero, D., Monke, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J., Bodesh, H., Kenny, S. and Boyd, M. R. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 82: 1107-1112.
13. Lee, J. S., Kim, N. S., You, I. S., Kim, J. S., Lee, K. N., Han, D. S., Kang, K. U., Lee, J. H. and Baek, S. H. (1999) A study on the effect of methanol extract of *Trichosanthes kirilowii* on the accumulation of cadmium in rats (I). *Kor. J. Gerontol.* 9(3): 28-33.

(2001년 1월 17일 접수)