

만성 카드뮴 중독 쥐에서 카드뮴 축적에 미치는 녹차 Catechin의 영향

최정화·이순재[§]

대구가톨릭대학교 식품영양학과

Effects of Green Tea Catechin on Cadmium Accumulation in Chronic Cadmium Poisoned Rats

Choi, Jeong-Hwa · Rhee, Soon-Jae[§]

Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Kyongsan 712-702, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of green tea catechin on the cadmium accumulation in body, cadmium excretion and detoxification functions in chronic cadmium poisoned rats. Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 g were randomly assigned to one normal group and three cadmium poisoned groups. Cadmium groups were classified to catechin free diet (Cd-0C group), 0.25% catechin diet(Cd-0.25C group) and 0.5% catechin diet(Cd-0.5C group) according to the levels of catechin supplement. Animals were maintained on 0, 0.25 and 0.5% catechin diets for 20 weeks and simultaneously administered 50ppm Cd²⁺ dissolved in the drinking water. Body weight, food intakes and food efficiency ratio in Cd-0C group was lower than the normal group. The accumulation of cadmium in rat liver, kidney, and blood was reduced by catechin supplementation. The excretion of cadmium in urine and feces was increased by catechin supplementation. The metallothionein(MT) contents in liver and kidney were increased in all cadmium groups compared with that of normal group. The ratios of cadmium absorption and retention ratios were significantly decreased in catechin supplementation groups. Accordingly, catechin supplementation resulted to an excretion of cadmium in urine and feces and a lowered accumulation of cadmium in liver and kidney by increasing methallothionein synthesis that led to the significant decrease in cadmium absorption and retention ratios. (*Korean J Nutrition* 34(4) : 384~392, 2001)

KEY WORDS: chronic-cadmium poisoning, catechin, cadmium accumulation.

서론

차(茶)는 전세계적으로 널리 소비되고 있는 가장 대중적인 천연 음료로서, 매년 약 250만 metric ton의 건조된 차가 제조되고 있다.¹⁾ 특히, 녹차는 flavanols, flavanone, flavonoid, phenolic acid를 포함한 폴리페놀류를 함유하고 있어 강한 항산화력을 나타낸다. 이러한 물질들은 차 건조중량의 약 30%를 차지하며, 대부분 녹차의 폴리페놀류는 catechin으로 알려진 flavanol류이다. 몇가지 주요한 녹차의 catechin으로는 (-)-epigallo-catechin 3-O-gallate (EGCg), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epicatechin 3-O-gallate(EGCg), (-)-epicatechin(EC), (+)-gallo-

catechin(GC), (+)-catechin(C) 등이다.²⁾

녹차를 비롯한 다류의 잎중에 존재하는 폴리페놀성 화합물인 catechin은 혈압저하 및 혈소판 응집감소 및 혈중 콜레스테롤 저하,³⁾ 중금속류 제거작용,⁴⁾ 항균작용,⁵⁾ 충치 억제 작용,⁶⁾ 항암작용,⁷⁾ 중추 신경계 활성화⁸⁾ 항돌연변이 및 항알레르기작용⁹⁾등의 여러 약리작용이 있는 것으로 보고되고 있으며, 특히 항산화작용¹⁰⁾ 및 혈소판 응집능 억제 등¹¹⁾에 대한 효과가 여러 연구를 통해 다수 보고되고 있어 각광 받는 기호 음료로서 자리를 잡아가고 있다.

환경오염 물질 중 일부 유독성 금속은 비교적 낮은 농도에서도 체조직과 반응하여 체내에 서서히 독작용을 나타내고 그 생물학적인 반감기가 길어 일단 중독이 되면 완치가 불가능하기 때문에 특히 문제가 되고 있는데, 이중 카드뮴은 체내에서 10~30년의 긴 생물학적 반감기를 가지고 있으므로 먹이 연쇄에 의하여 계속 축적되고, 이에 따라 그 독성도 누적된다.¹²⁾

접수일 : 2000년 9월 6일

채택일 : 2001년 4월 24일

[§]To whom correspondence should be addressed.

그러므로 일반적으로 사람은 출생시에는 인체내에 카드뮴이 존재하지 않지만 연령이 증가함에 따라 점차적으로 체내에 축적되어 60년 정도를 사는 동안 약 20~30mg의 카드뮴이 인체내에 축적되고, 체내 카드뮴 총 축적량의 50~80%가 간장과 신장에 존재한다.¹³⁾

카드뮴의 인체중독 현상으로는 간, 위장, 중추신경의 장애 등의 급성중독 현상과 신장기능의 장애, 갈습 흡수 장애와 골다공증 등의 골장해를 일으키는 이따이 이따이 질환과 같은 만성중독증이 잘 알려져 있다.¹⁴⁻¹⁶⁾

한편 카드뮴과 같은 중금속 오염에 대해 자연계에 존재하는 식물이나 생물질을 이용한 중금속 흡착 연구가 활발히 진행되고 있는데,¹⁷⁾ 그 중에서도 특히 다엽(茶葉)의 중금속 흡착효과는 여러 *in vitro* 실험에서 밝혀지고 있다. 이는 녹차를 비롯한 다엽(茶葉)에 다량 존재하는 폴리페놀계 화합물인 탄닌 성분이 금속 이온과 착염(chelation)에 의하여 결합하는 특성에서 기인하는 것으로 알려지고 있다.¹⁸⁾

카드뮴으로 오염된 식이를 공급하면서 녹차, 우롱차 및 홍차를 음료로 공급하여 다류의 카드뮴 제거능력을 관찰한 연구에서 녹차, 우롱차, 홍차의 순으로 제거능력이 있음을 보고하였다.⁴⁾ 사용된 다엽중의 catechin은 발효과정을 거치는 동안 theaflavin 및 기타 다른 물질로 변하게 되므로 발효차인 홍차와 반발효차인 우롱차는 비발효차인 녹차에 비해 catechin 함량이 적다. 따라서 카드뮴과 같은 중금속의 흡착능력도 떨어지게 되는 것으로 보아 폴리페놀 성분중의 하나인 여러 종류의 catechin이 착물형성 혹은 화학흡착에 의해 침전을 일으켜 중금속을 제거하는 것으로 생각된다. 즉, catechin은 장내에서 불용성 금속염을 형성하여 체내 흡수 단계에서 방어하여 그대로 카드뮴을 배출시키므로서 중금속의 독성으로부터 보호할 수 있다고 본다. 또한 Yoon¹⁹⁾의 보고에서 카드뮴 중독쥐에서 장기의 카드뮴 축적에 미치는 영향을 관찰한 결과 녹차 추출물 투여 쥐의 조직내 카드뮴 함량이 감소함을 알 수 있었다.

지금까지 녹차의 중금속에 대한 연구는 전술한 바와 같이 다소 보고된 바 있고 또 Rhee⁴⁾와 Lee 등²⁰⁾이 카드뮴과 같은 중금속이 체내에 축적될 때 녹차는 중금속의 체내 흡수를 억제하고 배설을 촉진하므로서 해독작용을 갖는 것으로 보고한 바 있으나, 지금까지 국내외적으로 catechin 성분 자체만을 추출하여 생체실험을 통한 카드뮴 해독작용에 대한 연구는 거의 볼 수 없다.

그러므로 본 연구는 만성 카드뮴 중독시킨 후 녹차 catechin 수준에 따른 체내 카드뮴 축적, 배설기구 및 해독기구에 미치는 영향을 10주와 20주로 나누어 관찰하고자 시도하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물의 사육

실험동물은 무게가 100g 정도되는 Sprague-Dawley 중 숫컷을 구입하여 실험 시작하기 전 7일간 일정한 환경에서 적응시킨 후 Table 1과 같이 증류수를 식수로 공급한 정상군(normal group)과 카드뮴 식수를 공급한 카드뮴군으로 나누고 카드뮴 투여군은 다시 식이내 catechin의 공급 함량에 따라 catechin을 넣지 않은 Cd-0C군, catechin을 0.25% 공급한 Cd-0.25C군 및 0.5% 공급한 Cd-0.5C군으로 나누었다.

카드뮴은 일상생활에서 식수를 통해서 오염될 가능성이 높기 때문에 만성중독시키기 위해 저농도인 50ppm의 카드뮴을 함유하게 하였다. 카드뮴식수 및 식이의 기본구성은 Table 1 및 2와 같다. 식수와 식이는 자유로이 섭취케하며 각각 10주 및 20주간 사육하였다. 체내 카드뮴 흡수율 및 보유율을 관찰하기 위해 5주에 한번씩 700ppm의 카드뮴을 1ml씩 경구 투여하였다(50ppm 카드뮴함유 식수를 하루 동안의 섭취한 양에 해당함). 또 10주와 20주에는 각각 실험종료 5일전에 metabolic cage에 넣고 700ppm의 카드뮴을 1일 1ml씩 투여하였으며 카드뮴 비공급군에는 동량의 증류수를 경구투여 하였고 3일간은 뇨와 대변을 채취하였다.

식이용 catechin은 태평양화학 중앙연구소(한국)에 의뢰하여 Matsuzaki²¹⁾ 등의 방법으로 crude catechin 분말을 조제하여 사용하였다.

2. 사료섭취량, 체중증가량 및 식이효율

Applegate 등²²⁾의 방법에 따라 사료와 식수 섭취량 및 체중은 전 실험기간을 통하여 매일 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율은 전 체중 증가량을 같은 기간동안의 사료섭

Table 1. Classification of experimental groups

	Catechin (% in diet)	Cadmium* (50ppm Cd in drinking water)
Normal ¹⁾	0	-
Cd-0C ²⁾	0	+
Cd-0.25C ³⁾	0.25	+
Cd-0.5C ⁴⁾	0.5	+

* : Experimental and normal groups fed with or without 50ppm Cd (CdCl₂ · 1/2 H₂O) in drinking water, respectively.

1) Normal: Cd no treatment

2) Cd-0C: Cd treatment, catechin free diet

3) Cd-0.25C: Cd treatment, catechin supplementation(0.25% catechin diet)

4) Cd-0.5C: Cd treatment, catechin supplementation(0.5% catechin diet)

Table 2. Composition of basal diet

Ingredients	Amount (g/kg diet)
Corn starch ¹⁾	668
Casein ²⁾	180
DL-methionine ³⁾	2
Corn oil ⁴⁾	50
Salt mixture ⁵⁾	40
Vitamin mixture ⁶⁾	10
Cellulose ⁷⁾	50
kcal/kg	3,850

- 1) Pung Jin Chem. Co., Seoul, Korea
- 2) Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wington, N. Z.
- 3) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
- 4) Dong Bang Oil Co., Seoul, Korea
- 5) AIN-76 Salt mixture(g/kg mixture):Calcium phosphate, dibasic (CaHPO₄ · 2H₂O) 500, Sodium chloride(NaCl) 74, Potassium citrateminohydrate(K₃C₆H₅O₇ · H₂O) 220, Potassium sulfate(K₂SO₄) 52, Magnesium oxide(MgO) 24, Manganous carbonate(45 - 48% Mn) 3.5, Ferric citrate(16 - 17% Fe) 6, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6 Cupric carbonate(53 - 55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃ · 5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate[CrK(SO₄)₂ · 12H₂O]0.55, Sucrose finally powdered, to make 1,000
- 6) AIN-76 vitamin mixture(mg/kg mixture):Thiamin · HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine · HCl 700, Nicotinic acid(nicotinamide in equivalent) 3,000, α-calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, α-biotin 20, Cyanocobalamin(vitamin B₁₂) 1, Retinyl palmitate or acetate(vitamin A) as stabilized powder to provide 400, 000IU vitamin A activity or 120,000 retinol equivalent, α-α-tocopheryl acetate 5,000IU, Cholecalciferol(100,000IU, may be in powder form)2.5, Menaquinone(vitamin K, menadione)5, Sucrose finally powdered, to make 1,000
- 7) CMC(sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber), Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A

취량으로 나누어줌으로써 계산하였다.

즉,

$$\text{식이 효율} = \frac{\text{전 체중증가량(g)}}{\text{전 사료섭취량(g)}} \times 100$$

3. 시료채취

1) 혈액 및 장기채취

실험 종료 후 실험 동물을 가벼운 ether 마취 하에서 1 ml의 3.8% sodium citrate를 미리 넣어둔 22 gauge의 주사기로 복부 대동맥으로부터 혈액을 얻었다. 간장과 신장 등을 적출하여 생리식염수로 씻어내고 무게를 측정 한 후 -80℃에 보관하였다. 무기질 분석을 위한 시료로 이용될 간장, 신장은 무게를 칭량한 후 110℃의 drying oven에서 말린 후 desicator에 보관하였다.

2) 뇨와 변의 채취

뇨와 변은 12시간을 절식시킨 날을 제외한 실험종료 전 3일간 metabolic cage에서 채취하였으며, 뇨는 총량을 측

정한 다음 1500 × g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 냉동보관하였고 변은 무게를 측정 한 다음 110℃의 drying oven에서 말린 후 desicator에 보관하였다.

4. 카드뮴 함량 측정

1) 간장, 신장조직 및 변중 카드뮴 함량 측정

간장, 신장 및 변의 카드뮴 함량은 시료의 일정량을 취하여 550℃의 muffle furnace에서 24시간 동안 건식분해시켜 농질산으로 녹인후 1N HCl로 희석하여 파장 228.8nm에서 atomic absorption spectrophotometer(AAs, Cambridge, UK)로 측정하였다.²³⁾

2) 혈액 및 뇨중의 카드뮴 함량 측정

혈액 및 뇨의 카드뮴 함량은 시료의 일정량을 kjeldahl flask에 넣고 습식 분해시킨 후 증류수로 희석하여 파장 228.8nm에서 AAs로 측정하였다.²⁴⁾

5. 간장 및 신장의 Metallothionein(MT) 함량 측정

간장 및 신장조직의 일정량을 취하여 potter-elvehem homogenizer를 사용하여 10mM tris/HCl(pH 8.2), 0.25M sucrose, 2mM 2-mercaptoethanol, 10mM sodium azide, 0.1mM phenylmethyl sulfonyl fluoride(PMSF)의 50% 용액으로써 마쇄하여 105,000 × g에서 60분간 초원심분리하여 얻은 상층액(cytosol)을 total MT 분석용으로 사용하였다. 위에서 얻은 cytosol에서 Hidalgo 등²⁵⁾의 방법에 의하여 AAs(Solar 929, UK)로 228.8nm에서 측정하였다.

6. 체내 카드뮴 흡수율 및 보유율

카드뮴의 체내 흡수율 및 보유율은 다음과 같이 계산하였다.

1) 카드뮴 흡수율(%)

$$= \frac{\text{1일 동안의 카드뮴 경구투여량}(\mu\text{g}) - \text{1일 동안의 변배설량}(\mu\text{g})}{\text{1일 동안의 카드뮴 경구 투여량}(\mu\text{g})} \times 100$$

2) 카드뮴 보유율(%)

$$= \frac{\text{1일 동안의 카드뮴 경구투여량}(\mu\text{g}) - [\text{1일 동안의 변배설량}(\mu\text{g}) + \text{1일 동안의 뇨배설량}(\mu\text{g})]}{\text{1일 동안의 카드뮴 경구 투여량}(\mu\text{g})} \times 100$$

7. 통계처리

실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석의 결과 유의성이 있는 경우 군간의 유의도는 Tukey's-HSD test에 의해 분석하였다.

결 과

1. 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 및 카드뮴 섭취량

흰쥐를 20주간 만성적으로 카드뮴을 중독시키면서 실험 기간 동안의 체중증가량을 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 정상군은 실험기간동안 지속적인 증가를 보인 반면 catechin을 공급하지 않은 카드뮴 중독군은 카드뮴 식수 공급 후부터 실험기간 동안 정상군에 비해 계속적으로 낮은 체중증가량을 나타내었으며 catechin 공급군은 Cd-0C군에 비해 높은 체중증가량을 나타내었다. 식이섭취량, 식이효율 및 카드뮴 섭취량을 관찰한 결과(Table 3), 식이 섭취량은 정상군에 비해 catechin을 공급하지 않으면서 카드뮴을 만성적으로 중독시킨 Cd-0C군만이 유의적으로 감소하였고 catechin 공급군은 정상군 수준이었다. 체중증가는 카드뮴을 투여한 군에서 유의적으로 감소하였으나 catechin을 공급한 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군에서는 Cd-0C군에 비하여 증가율이 높았다($p < 0.05$).

식이효율은 정상군에 비해 카드뮴 투여군 모두가 감소되

었으며 catechin 투여군(Cd-0.25C군, Cd-0.5C군)에서 Cd-0C군에 비해 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 한편 식수섭취량에 따른 카드뮴 섭취량은 카드뮴 처리군간의 유의적인 차이는 없었다.

2. 간장 및 신장의 무게

중금속의 중독 및 해독과정에서 가장 중요한 기관이라 할 수 있는 간장과 신장의 무게를 실험 10주, 20주에서 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 간장의 무게는 10주, 20주 모두 정상군에 비하여 카드뮴 중독군에서 유의적으로 감소하였으며 catechin 공급군에서는 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비해 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다. 신장무게는 실험 10주에는 Cd-0C군과 Cd-0.25C군은 정상군에 비해 유의적으로 감소하였으며 Cd-0.5C군만이 정상군 수준이었으나 20주에서는 catechin 공급군 모두 Cd-0C군에 비해 유의적으로 높았다($p < 0.05$).

간장무게를 체중으로 나눈 단위체중당 간장 중량은(Table 4) 10주에는 실험군간의 유의적인 차이가 없었으나 20주에는 정상군에 비하여 Cd-0C군은 8.6% 증가되었으나

Table 3. Effects of green tea catechin on body weight gains, food intakes, food efficiency ratios(FER) and cadmium intakes in cadmium administered rats for 20 weeks

Group	Food intake(g/day)	Body weight gain(g/20weeks)	FER	Water intake(ml/day)	Cd intake(ppm/day)
Normal	14.27 ± 0.12 ^a	309.00 ± 5.51 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	32.20 ± 1.58 ^a	-
Cd-0C	13.07 ± 0.06 ^b	252.25 ± 7.32 ^b	0.13 ± 0.01 ^b	24.82 ± 2.44 ^b	1.38 ± 0.14 ^{NS}
Cd-0.25C	14.00 ± 0.47 ^a	284.40 ± 5.08 ^c	0.14 ± 0.01 ^{ac}	27.58 ± 2.54 ^{ab}	1.46 ± 0.16
Cd-0.5C	14.42 ± 0.27 ^a	286.25 ± 8.70 ^c	0.14 ± 0.01 ^{ac}	28.13 ± 3.57 ^{ab}	1.41 ± 0.14

All values are mean ± SEM(n = 10)

Column means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test

NS: not significant

Table 4. Effects of green tea catechin on tissue weights and tissue weights relative to body weights in chronic cadmium poisoned rats

Group	Organ	Liver		Kidney	
		10 wks	20 wks	10 wks	20 wks
(g)					
Normal		8.63 ± 0.37 ^a	8.97 ± 0.75 ^a	2.81 ± 0.06 ^a	2.94 ± 0.05 ^a
Cd-0C		6.98 ± 0.86 ^b	7.17 ± 0.65 ^b	2.58 ± 0.02 ^b	2.43 ± 0.13 ^b
Cd-0.25C		7.19 ± 0.53 ^b	8.42 ± 0.38 ^b	2.62 ± 0.02 ^{bc}	2.66 ± 0.14 ^c
Cd-0.5C		7.21 ± 0.30 ^b	8.29 ± 0.59 ^b	2.66 ± 0.06 ^{ac}	2.72 ± 0.04 ^c
Liver index					
(g/100g bw)					
Normal		2.44 ± 0.12 ^{NS}	2.55 ± 0.10 ^a	0.64 ± 0.03 ^{NS}	0.62 ± 0.01 ^a
Cd-0C		2.70 ± 0.15	2.77 ± 0.03 ^b	0.67 ± 0.02	0.68 ± 0.01 ^b
Cd-0.25C		2.58 ± 0.07	2.52 ± 0.07 ^a	0.65 ± 0.02	0.63 ± 0.01 ^a
Cd-0.5C		2.56 ± 0.07	2.57 ± 0.05 ^a	0.63 ± 0.02	0.65 ± 0.01 ^a

All values are mean ± SEM(n = 10)

Column means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test

NS: not significant

Table 5. Effects of green tea catechin on liver and kidney cadmium concentrations in chronic cadmium poisoned rats

Group	Organ	Liver		Kidney	
		10 wks	20 wks	10 wks	20 wks
(µg/g wet wt)					
Normal		0.23 ± 0.01 ^a	0.53 ± 0.03 ^a	1.50 ± 0.01 ^a	2.50 ± 0.01 ^a
Cd-0C		19.52 ± 1.49 ^b	27.54 ± 0.94 ^b	8.63 ± 0.22 ^b	35.79 ± 2.03 ^b
Cd-0.25C		13.80 ± 0.92 ^c	13.14 ± 0.43 ^c	7.58 ± 0.21 ^c	19.55 ± 1.10 ^c
Cd-0.5C		10.47 ± 0.76 ^d	11.59 ± 1.49 ^c	7.38 ± 0.36 ^c	20.25 ± 0.51 ^c

All values are mean ± SEM (n = 10)

Column means with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test

catechin 공급군에서(Cd-0.25C군, Cd-0.5C군)에서는 정상군 수준이었다. 단위 체중당 신장 중량도 10주에는 실험군간의 유의적인 차이가 없었으나 20주에는 정상군에 비해 Cd-0C군만이 유의적으로 높았다(p < 0.05).

3. 카드뮴의 체내 축적 및 해독 상태

1) 간장 및 신장조직에서의 카드뮴 함량

실험 10주와 20주의 간장 및 신장조직에서의 카드뮴 축적변화는 Table 5와 같다. 간장에서의 카드뮴 함량은 정상군에서는 거의 존재하지 않으나 카드뮴을 만성적으로 투여한 10주에서는 정상군보다 Cd-0C군에서는 85배, Cd-0.25C군은 60배, Cd-0.5C군에서는 45.5배 증가하였으며 catechin을 공급한 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군은 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비해 29%, 46%씩 감소하였다. 또한 20주에서 간조직의 카드뮴 함량은 10주때 보다 높았으나 실험군간의 차이는 유사한 경향이였다. 신장조직에서의 카드뮴 함량변화는 10주와 20주 모두 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비하여 catechin 공급군에서는 유의적으로 감소 하였다. 또한 10주에서 신장조직의 카드뮴 함량은 간조직의 1/2정도로 함량이 적었으나 20주간 중독시켰을때에는 신장조직의 카드뮴 함량이 간조직에서 보다 약 2배이상 많았다. 또한 10주에 비하여 20주의 신장에서의 카드뮴 함량은 4배정도 증가하였다.

2) 혈액중 카드뮴 함량

간 및 기타조직으로부터 유래된 것으로 구성된 혈액에서의 카드뮴 함량변화는 Fig. 1과 같다. 10주에서 혈액중의 카드뮴 함량은 catechin 비공급군인 Cd-0C군(21.9 ± 0.9)에 비하여 catechin 공급군인 Cd-0.25C군(10.0 ± 0.9)과 Cd-0.5C군(12.6 ± 0.4)에서 각각 54%, 32%씩 감소하였다. 20주에는 Cd-0C군(29.1 ± 0.9)에 비하여 Cd-0.25C군(13.6 ± 1.5)과 Cd-0.5C군(15.0 ± 0.4)은 유의적(p < 0.05)으로 감소하였으며 이는 10주와 유사한 경향이였다.

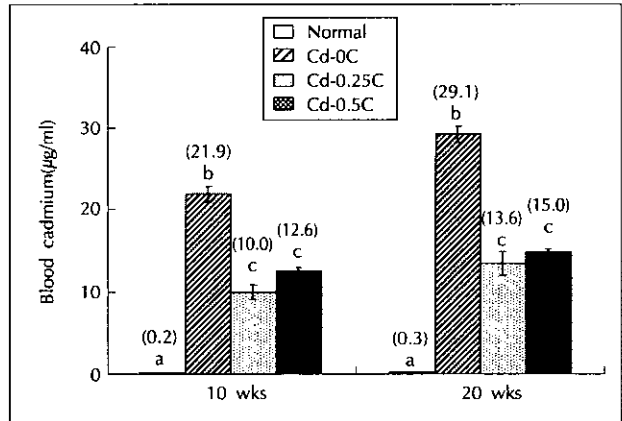


Fig. 1. Effects of green tea catechin on blood cadmium concentration in chronic cadmium poisoned rats All values are mean ± SEM (n = 10). Those with different superscript letters are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test.

3) 뇨 및 변으로의 카드뮴 배설량

Catechin의 간장, 신장 및 뼈조직에서의 카드뮴 축적을 감소시키는 효과가 배설에 의한 체외로의 축적 기전인지를 규명하기 위해서 뇨와 대변중의 카드뮴 배설량을 측정된 결과 Table 6과 같다.

10주에는 정상군에서 뇨중 카드뮴 배설량은 극히 미량이나 카드뮴 투여군에서는 11.64µg/day 이었으며 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군에서는 각각 16.08µg/day 및 19.78µg/day로 catechin에 의한 뇨중으로 배설량이 다소 축진됨을 알 수 있었다. 20주에서 10주에서와 뇨중 배설량도 유사한 경향이였다.

중금속의 주된 배설경로인 대변중으로 카드뮴의 배설을 보면 10주에서는 catechin 투여군인 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군에서 비투여군인 Cd-0C군에 비해 2.6배, 4.3배로 현저하게 증가된 것을 알 수 있었다. 20주에서도 10주에서와 마찬가지로 catechin 비공급군에 비하여 catechin 공급군에서 현저히 증가하였으며 또한 catechin의 함량에 따라서도 대변중 배설량이 차이가 나타나는 것을 볼 수 있었다.

직의 카드뮴의 축적상태와 배설상태 및 해독기구에 미치는 녹차 catechin의 효과를 관찰하였다.

본 실험에서 식이 섭취량, 체중증가량 및 식이효율을 관찰한 결과 카드뮴 공급군인 Cd-0C군에서 비공급군에 비해 유의적으로 낮았다. 이러한 경향은 카드뮴 공급으로 인한 연구^{26,27)}에서 공통적으로 나타나는데 특히 체중증가량 감소는 대부분 카드뮴이 열량대사에 영향을 준다기 보다는 식이 섭취량이 감소한 것이 직접적인 원인이라 볼 수 있다. 따라서 식이섭취량의 감소에 의해 식이효율이 감소되었다고 볼 수 있다. 그러나 녹차 catechin 공급군의 식이 섭취량, 체중증가량과 식이효율 등이 비공급군에 비해 높았는데 이러한 결과는 카드뮴 중독 쥐에서 flavonoid 공급시 식이 섭취량과 체중증가가 다소 증가했다는 보고와 일치하였다.⁴⁾

간장과 신장조직은 동물체내에서 카드뮴 축적량이 50~80%가 간장과 신장조직에 분포되어 카드뮴 중독에 가장 큰 영향을 받는 기관이면서 동시에 주된 해독기관이다. 본 연구에서 간장과 신장의 무게는 카드뮴 공급군이 정상군에 비해 감소하였는데 이는 카드뮴에 의해 조직이 손상되었거나 카드뮴 공급군의 체중이 감소함에 따라 기관의 무게 역시 감소하였기 때문이다. 그러나 장기 무게를 체중으로 나눈 간장과 신장의 index는 카드뮴 공급 후 증가하였는데 이는 카드뮴 중독시 장기조직의 괴사현상이 나타나고 비대해진다는 보고와 일치하는 것이다.²⁸⁾ 그러나 catechin 투여군인 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군은 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비해 간장과 신장의 index가 유의적으로 감소하였는데 이는 간장과 신장의 카드뮴 축적 결과와 관련지어 볼 때 catechin이 카드뮴 축적을 감소시킨데서 기인한 것으로 볼 수 있다.

카드뮴의 노출경로에 관계없이 몸에서 카드뮴이 첫번째로 축적 되는 기관인 간장에서의 카드뮴 함량을 관찰한 결과 10주, 20주 모두 Cd-0C군에 비하여 catechin공급군에서 유의적으로 감소하는 경향이었다. 신장의 카드뮴 함량 또한 간장에서의 카드뮴 함량양상과 유사한 경향이었으며 특히 체내에 20주의 신장 카드뮴 함량은 10주에 비하여 4배 정도 증가함을 볼 수 있었다. 이는 소장에서 혈액순환계로 흡수된 카드뮴은 일차적으로 간장으로 운반되어 축적되기 때문에 간장의 카드뮴 함량이 증가된다. 그러나 장기간 투여시는 시간이 흐름에 따라 계속 간장에서만 머무르는 것이 아니라 신장으로 운반되어 축적된다.²⁹⁾ 따라서 카드뮴 중독 초기에는 간장조직에서의 카드뮴 함량이 신장 카드뮴 함량의 비율보다 높다가 점점 감소하게 되고 장기간 카드뮴을 공급하게 되면 신장에 더 많이 축적된다.

혈액중에 존재하는 카드뮴은 소장에서 흡수된 것과 간장

및 기타조직으로 부터 유래된 것으로 구성된다. 카드뮴 투여후후 혈액을 채취하여 카드뮴의 분포를 살펴보면 60% 정도의 카드뮴이 metallothionein에 결합되어 있는 것으로 나타난다.^{30,31)} 그러나 어느정도 대사가 진행된 후 채취한 혈액에서는 주로 albumin에 의해서 결합되어 있는 것으로 나타나고 있는데 이것은 cadmium-albumin은 사구체를 통과하지 못하므로 혈액에 남게되는 반면 Cd-MT는 사구체막을 쉽게 통과하여 소변으로 배설되기 때문이다.³²⁾ 혈액 중의 카드뮴 함량을 관찰한 결과 카드뮴 중독군인 Cd-0C군에서 혈중 카드뮴 함량이 높으므로 타조직으로 이행되는 카드뮴이 많을 것으로 생각되어진다. 본 연구에서 혈액 중 카드뮴 함량이 catechin 공급군에서 유의적으로 감소한 결과 이는 catechin공급으로 인해 혈액의 카드뮴은 간장과 신장으로 이행되는 함량이 감소될 것으로 생각된다.

대변중의 카드뮴 배설량은 카드뮴으로 인해 소화되지 못한 단백질 분해 물질이 카드뮴과 결합된 채로 체외로 배설되거나³³⁾ 장세포에서 합성된 metallothionein이 카드뮴과 결합하고 있다가 장세포 교체시 함께 배설됨으로써 카드뮴 배설을 억제시켜 준다고 보고되었다.³⁴⁾ 본 연구에서 카드뮴의 주된 배설경로인 변을 통한 배설량은 catechin 급여군에서 유의적으로 증가하였는데 이는 catechin이 카드뮴과 불용성 착화합물을 형성하여 카드뮴의 장내흡수를 저해하고 대변으로의 배설량을 증가시키기 때문인 것으로 사료된다.

이러한 경향은 flavonoid의 일종인 감귤과피로부터 분리한 hesperidin을 섭취하였을 때 변을 통해 카드뮴 배설을 증가시켜 카드뮴 독성을 완화시켰다는 결과와도 일치하는 것이다.²⁷⁾ Flavonoid는 hydroxyl 치환기의 위치와 고리계(ring system)의 전자적 성질에 따라 전이금속에 대한 좋은 배위자(ligand)가 될 수 있어 구리, 아연, 철분이온등에 강한 친화력을 갖고 있다.³⁵⁾ 이것으로 보아 녹차 중의 polyphenol성 성분중의 하나인 여러 종류의 catechin이 착물 형성 혹은 화학 흡착에 의해 침전을 일으켜 중금속을 제거하는 것으로 생각된다.

카드뮴 중독의 중요한 판정지표는 뇨중 카드뮴양의 측정으로 과량의 카드뮴에 노출되었을 때 MT가 포화되어 뇨중 카드뮴 배설이 증가하나 카드뮴에 노출되지 않았을 경우에는 뇨중 카드뮴 배설이 소량(1~2 μ g)으로 일정하다고 한다.³⁶⁾ 본 연구에서 뇨중 카드뮴 배설량을 관찰한 결과 catechin 공급군이 catechin 비공급군에 비해 유의적으로 높았는데 이는 catechin이 유독성의 유리 카드뮴을 무독성의 Cd-MT합성을 유도시킨 것으로 본다. 생체는 중금속 침입시 그 독성을 해독하기 위한 반응으로써 MT를 합성하여 무독화시킨다. MT는 분자량이 작은 금속결합단백질로서 61개의 아미노산으로 구

성되어 있고 분자내에 시스테인이 풍부하여, 방향족 아미노산이나 소수성 잔기가 적은 저분자성 단백질이다.³⁰⁾ MT는 카드뮴과 같은 중금속에 의해 세포내에서 합성이 유도되는데 중금속이 체내에 흡수될 경우 주로 간장 및 신장조직에서 MT의 합성이 크게 증가되므로써 유독성의 유리 카드뮴을 무독성의 물질로 만들어 그 독성을 완화시키며 간장조직에서 신장조직으로 중금속을 운반하여 중금속을 체외로의 배설을 돕는다. Morselt 등³¹⁾은 Wistar종의 암컷 흰쥐에게 CdCl₂를 피하 주사하여 효소 조직화학(enzyme histochemistry) 연구를 실시한 결과 cadmium-thiolate cluster는 유독하지 않으며 카드뮴의 독성은 세포가 카드뮴을 얼마나 많이 격리시킬 수 있으나 다시말해 MT를 얼마나 많이 합성할 수 있는지에 달려있다고 설명하였다. 본 실험에서 카드뮴의 해독기구인 Cd-MT합성을 간장조직에서 측정한 결과 카드뮴 투여군에서 비투여군에 비해 현저히 증가하였으며 catechin 공급에 의해서도 증가하였다. 신장의 MT 함량은 간장 조직보다 적었지만 경향은 비슷하게 나타났으며 10주보다 20주에 MT 합성량이 증가되었다. 이는 장기간 카드뮴에 노출된 경우 신장조직에서 Cd-MT농도가 증가되고 Cd-MT로 부터 독성이 강한 유리 카드뮴 이온의 방출이 증가되어 세포내 여러 효소의 작용을 방해하고 증가된 Cd-MT 자체가 고분자량의 단백질과 결합하여 세포막을 손상시키는 등 신장기능 장애를 유발하게 된다. 또한 카드뮴 배설량을 기준으로 계산한 흡수율과 보유율도 카드뮴 공급군에서 모두 증가하였으나 Cd-0C군에 비해 catechin공급군인 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군은 유의적으로 감소하였다.

이러한 결과는 catechin이 체내로 카드뮴 흡수를 소화기관에서 억제시키고 대변으로 배설을 촉진시키는 기능과 간장과 신장에서의 유리 카드뮴으로부터 Cd-MT 합성을 촉진시켜 뇨중으로 배설을 촉진시킨 결과로 볼 수 있다.

따라서 만성 카드뮴 중독 쥐에서 catechin이 불용성의 착화합물을 형성하여 체내 카드뮴 흡수를 억제시키고 해독기구를 강화시킴으로써 대변이나 뇨로 배설을 촉진시켜 혈액, 간장 및 신장 등의 조직내에서 카드뮴 축적을 완화시킬 수 있을 것이다.

요약 및 결론

만성 카드뮴 중독 흰쥐에서의 카드뮴의 축적, 배설 및 해독기구에 미치는 녹차 catechin의 효과를 관찰하고자 하였다. 실험동물은 100g 내외의 Sprague-Dawley종 흰쥐를 대상으로 카드뮴을 투여하지 않은 정상군과 카드뮴 투여군으로 나누었다. 카드뮴 투여군은 다시 식이내 catechin 공

급 수준에 따라 Cd-0C군(catechin 비공급군), Cd-0.25C군(catechin 2.5g/kg of diet), Cd-0.5C군(catechin 5g/kg of diet)으로 나누어 10주, 20주간씩 자유섭식시켰다. 카드뮴은 50ppm Cd²⁺ 농도의 식수로 자유로이 공급하였다.

식이 섭취량, 체중증가량 및 식이효율을 관찰한 결과 카드뮴 공급군인 Cd-0C군에서 비공급군에 비해 유의적으로 낮았으나 녹차 catechin 공급군은 비공급군에 비해 높았다. 간장과 신장의 무게는 카드뮴 공급군이 정상군에 비해 감소하였으나 catechin 투여군인 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군은 catechin 비공급군인 Cd-0C군에 비해 간장과 신장의 index가 유의적으로 감소하였다. 간장에서의 카드뮴 함량을 관찰한 결과 10주, 20주 모두 Cd-0C군에 비하여 catechin공급군에서 유의적으로 감소하는 경향이였다. 신장의 카드뮴 함량 또한 간장에서의 카드뮴 함량양상과 유사한 경향이였으며 특히 체내에 20주의 신장 카드뮴 함량은 10주에 비하여 4배 정도 증가함을 볼 수 있었다. 혈액중의 카드뮴 함량을 관찰한 결과 카드뮴 중독군인 Cd-0C군에서 혈중 카드뮴 함량이 높았으나 catechin공급군에서 유의적으로 감소하였다. 대변중의 카드뮴 배설량은 catechin 급여군에서 유의적으로 증가하였으며 뇨중 카드뮴 배설량을 관찰한 결과 catechin 공급군이 catechin 비공급군에 비해 유의적으로 높았다. 카드뮴의 해독기구인 Cd-MT합성을 간장조직에서 측정한 결과 카드뮴 투여군에서 비투여군에 비해 현저히 증가하였으며 catechin 공급에 의해서도 증가하였다. 신장의 MT 함량은 간장 조직보다 적었지만 경향은 비슷하게 나타났으며 10주보다 20주에 MT 합성량이 증가되었다. 카드뮴 배설량을 기준으로 계산한 흡수율과 보유율도 카드뮴 공급군에서 모두 증가하였으나 Cd-0C군에 비해 catechin공급군인 Cd-0.25C군과 Cd-0.5C군은 유의적으로 감소하였다.

따라서 catechin의 공급은 뇨와 변중으로의 카드뮴 배설량을 증가시키고 카드뮴 해독기구인 간장과 신장조직에서의 MT 합성을 촉진시켜 체내 각조직의 카드뮴 축적을 감소시켰다. 따라서 카드뮴 체내 흡수율과 보유율은 catechin 공급으로 현저하게 감소되었다. 결론적으로 녹차 catechin은 만성 카드뮴 중독 흰쥐에서 카드뮴의 체내흡수를 저해하고 배설을 촉진시킴과 동시에 카드뮴 해독기구를 강화시킴으로서 카드뮴의 체내 축적을 억제시켰다.

■ 감사의 글

이 논문은 1997년도 한국학술진흥재단의 학제간 연구지원(D00075)에 의해 수행된 연구결과 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Yang CS, Wang ZY. Tea and cancer. *J Natl Cancer Inst* 85(13): 1038-1049, 1993
- 2) Choi SH, Lee BH, Choi HD. Analysis catechin contents in commercial green tea by HPLC. *J Korean Soc Food Nutr* 21(4): 386-389, 1992
- 3) Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 32(6): 613-622, 1986
- 4) Kim MJ, Rhee SJ. Effects of korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium in rat. *J Korean Soc Food Nutr* 23(5): 784-791, 1994
- 5) Sakanaka S, Kim M, Tariguchi M, Yamamoto T. Antibacterial substances in japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*. A cariogenic bacterium. *Argic Biol Chem* 53(9): 2307-2311, 1989
- 6) Sakanaka S, Shimura N, Aizawa M, Kim M, Yamamoto T. Preventive effect of green tea polyphenols against dental caries in conventional rats. *Biosci Biotech Biochem* 56(4): 592-594, 1992
- 7) Cheng SJ. The preliminary study of inhibitory effects of green tea antioxidant on mutation. *Acta of Experimental Biology* 9: 328-334, 1986
- 8) Hayashi E, Hayashi M, Yamazoe H. Pharmacological action of tea extract on the central nervous system in mice. *Oyo Yakuri* 40(3): 351-356, 1990
- 9) Kada T, Kaneko K, Matsuzaki S, Matsuzaki T, Hara Y. Detection and chemical identification of natural bioantimutagens. *Mutation Research* 150: 127-131, 1985
- 10) Matsuzaki T, Hata Y. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaish* 59: 129-134, 1985
- 11) Kazuko N, Midori Y, Chikusa T, Michiko I, Mitsuo N. Platelet aggregation inhibitory activity of tea extracts. *Nippon Shokuhin Kogyo*
- 12) Page AL, Chang AC. Cadmium. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, pp.33-75, 1986
- 13) Perry HM Jr, Yunice A. Acute pressor of Intra-Arterial cadmium and Mercuric Ions In Anesthetized Rats. *Proc Soc Exp Bio Med* 120(3): 805-808, 1965
- 14) Kazantzis G. Renal Tubular dysfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environ Health Perspect* 28: 155-159, 1979
- 15) Morita S. Defense mechanisms against cadmium toxicity. III Effect of pretreatment with a small oral dose of cadmium on metallothionein synthesis after a large oral dose of cadmium in mice. *Japan J Pharmacol* 35(2): 153-161, 1984
- 16) Schroeder HA, Nason AP, Prior RE, Reed JB, Haessler WT. Influence of cadmium in renal ischemic hypertension in rats. *Am J Physiol* 214(3): 469-474, 1968
- 17) Axelsson B, Piscator M. Renal damage after prolonged exposure to cadmium. An experimental study. *Arch Environ Health* 12: 360-373, 1966
- 18) Mori T, Watanabe T, Tosa T, Chibata I, Iwano K, Nunokawa Y. Absorption of heavy metal ions on immobilized tannin. *J Brew Soc Japan* 76(2): 111-114, 1981
- 19) Yoon YH, Rhee SJ. Effects of korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the antioxidative detoxification in rat poisoned with cadmium. *Korean J Nutrition* 27(10): 1007-1017, 1994
- 20) Lee SR, Lee JH, Choi SI. Effect of Green Tea Beverage for the removal of heavy metal. Proceedings of the 2nd international symposium on green tea, pp.77-87, 1993
- 21) Matsuzaki T, Hata Y. Antioxidative activity of tea leaf catechin. *Nippon Nogeikagaku kaish* 59: 129-134, 1985
- 22) Applegate EA, Uptar DE, Stern JS. Exercise and detrains. Effect on food intake, adiposity and lipogenesis in osborne-mendel rats made obese by a high fat diet. *J Nutr* 114: 447-459, 1984
- 23) Zinterhofer LJ, Jatlow PI, Fappiano A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78: 664-674, 1971
- 24) Yeager DW, Cholok J, Henderson EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometry. *Environ Sci Technol* 5: 1020-1022, 1971
- 25) Hidalgo J, Armario A, Flos R, Garvey JS. Restraintstress-induced changes in rat liver and serum metallothionein and in zinc metabolism. *Experientia Basel* 42: 1006-1010, 1986
- 26) Juhlshamn K, Utne F, Brackkan OR. Internations of cadmium with copper, zinc and iron in different organs and tissues of the rat. *Acta Pharmacol Toxicol* 41: 515-524, 1977
- 27) Kim HJ, Bae KH, Lee HJ, Eun JB, Kim MK. Effect of Hesperidin extracted from tangerine peel on Cd and lipid metabolism, and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutrition* 32(2): 137-149, 1999
- 28) Cousins RJ, Barber AK, Trout JR. Cadmium toxicity in growing swine. *J Nutr* 103: 964-972, 1973
- 29) Nechay BR, Saunders JP. Inhibition of renal adenosine triphosphatase by cadmium. *J Pharmacol Exp Ther* 200(3): 623-629, 1977
- 30) Cherian MG, Goyer RA. Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Sciences* 23: 1-10, 1978
- 31) Nordberg GF, Piscator M, Nordberg M. On the distribution of cadmium in blood. *Acta Pharmacol Toxicol* 30(3): 289-295, 1971
- 32) Suzuki Y. Cadmium, copper and zinc distribution in blood of rats after long-term cadmium administration. *J Toxicol Environ Health* 7(2): 251-262, 1981
- 33) Kojima S, Kiyozuma M, Honda T, Nakagawa M. Effect of three proteins on absorption of cadmium in rats. *Toxicology* 34(2): 161-171, 1985
- 34) Nordberg GF, Piscator M. Influence of long term Cd exposure on urinary excretion of protein and Cd in mice. *Environ Physiol Biochem* 2: 37, 1972
- 35) Isabelle M, Gerard L, Pascale C, Odile S, Nicole P, Pierre B, Pierre C, Josiane C. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem Pharmacol* 45(1): 13-19, 1993
- 36) Bremner I. Cadmium toxicity: Nutritional influence and the role of metallothionein. *World Rev Nutr Diet* 32: 165-197, 1978
- 37) Rhee SJ, Huang PC. Metallothionein accumulation in CHO, Cd cells in response to lead treatment. *Chem Biol Interactions* 72: 347-361, 1989
- 38) Morselt AF, Suzuki KT, Roelofsen AM, Hazelhoff Reelfzema W, Copius Peereboom-Stegeman JH. Increase of cadmium-thiolate clusters as a measure of morphological non-toxic cadmium accumulation in the liver. *Toxicology* 41(1): 33-41, 1986