

## Sodium molybdate가 납중독 랫드의 말초신경내 myo-inositol 인지질 대사 관련 효소에 미치는 영향

박성환 · 정명규 · 조해용 · 최창하 · 김명녀\*  
선문대학교 환경공학과 · 화학과\*

## Effects of sodium molybdate on myo-inositol phospholipid metabolism-related enzymes in peripheral nerves of lead-intoxicated rats.

Sung-Hwan Park · Myung-Kiu Chung · Hae-Yong Cho  
Chang-Ha Choi · Myung-Nyu Kim\*  
*Dep. of Environmental Eng., Sunmoon University*  
*Dep. of chemistry, Sunmoon University\**

### Abstract

We have previously demonstrated that sodium molybdate(Mo) improved lead-intoxicated status by enhancing the metabolism of myo-inositol-related phospholipids in sciatic nerves isolated from rats. In this study, in order to address the reduction mechanism of Mo for lead toxicity, effects of Mo on cystidine-diglyceride transferase, phosphatidylinositol kinase, and phosphatidyl inositol-4-phosphate kinase, involved in myo-inositol metabolism of nerve, were investigated in vivo and in vitro. Mo significantly increased the activities of cystidine-diglyceride transferase and phosphatidylinositol kinase in lead-intoxicated rat, and the pattern of increase was dose-dependent manner. However, Mo did not affect the activity of phosphatidylinositol-4-phosphate kinase in normal and lead-intoxicated rats. We also found that Mo affected the activities of phospholipid metabolism-related enzymes not by the indirect manner such as activation of another metabolic pathway but by the direct manner. These results suggest that the improvement mechanism of Mo for lead-intoxicated status might be a normalization of the activities of phospholipid metabolism-related enzymes in sciatic nerve.

Key words : sodium molybdate, lead, sciatic nerve, phosphoinositide cystidine-diglyceride transferase, phosphatidylinositol kinase, phosphatidyl inositol-4-phosphate kinase.

### I. 서 론

Phosphoinositides는 모든 세포에서 발견되는 대

표적인 인지질로서 대략 총 인지질의 10% 비율로 존재하며 주로 세포내로 유입되는 이온이나 용질들의 조절기능, 외부의 정보를 세포내로 전달하는

기능, ATP 의존형 특정효소의 활성 유지 등 다양한 생리 기능에 관여하는 것으로 보고되고 있다<sup>1-3)</sup>. 특히 신경 조직의 경우는 외부 자극을 신경절에 전달하는데 있어서 메신저로서의 역할을 담당하는 필수 인지질로서 phosphatidic acid와 신경 조직내에 고농도로 존재하는 myo-inositol과 결합하여 형성된다. 따라서 신경 조직이 외부자극에 대하여 정확한 반응체계를 유지하기 위해서는 조직내 일정 농도의 phosphoinositide의 합성이 필수적인 것으로 보고되고 있다<sup>4,5)</sup>. 본 연구실에서는 다양한 생리기능을 갖는 것으로 보고된 Mo를 대상으로 증금속 독성 저감 효과를 실험한 결과, 납중독 랫드의 신경 조직내 감소된 인지질 대사를 증가시키는 방법으로 신경 병변을 개선하는 것으로 보고한 바 있다<sup>6)</sup>. 특히 실험 결과에 따르면 Mo는 인지질 중에서도 myo-inositol과 관련된 인지질 대사에만 선택적으로 작용하는 특이성을 보이는 것으로 밝혀졌다. 따라서 본 연구에서는 납중독성 말초신경내 인지질 대사에 미치는 Mo의 영향에 관한 이전의 연구결과를 토대로 하여, Mo의 신경병변 개선 메커니즘을 규명하기 위한 목적으로서 신경 조직내 myo-inositol 관련 인지질 대사에 관여하는 효소 활성에 미치는 영향을 in vivo와 in vitro 실험을 통하여 살펴보고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험방법 및 재료

본 연구에 사용된 수컷 albino rat(이하 랫드라 칭함)는 (주) 대한바이오텍으로부터 공급받아 1주일간 실험 사육장 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 인공 조명에 의하여 조명 시간을 아침 7:00부터 저녁 7:00까지 12시간으로 조절하였으며, 실내 온도는  $22 \pm 5^\circ\text{C}$ 로 유지하였다. 사료는 고품 사료(삼양사)를 사용하였고, 그 조성은 조단백 21%, 조지방 3.5%, 조셀룰로즈 5.0%, 무기질 8.0% 등이었으며 사료와 급수는 제한하지 않았다. 또한 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma사로부터 구입하였다.

in vivo 실험의 경우 실험동물은 정상군(NC), 납

(10 ppm)투여군(LT), Mo(1 mg/kg) 투여군(SM), 납과 Mo투여군(LT+SM)등 네군으로 분류하였다. 납중독 상태의 유도과 Mo( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )의 투여 방법은 이전 논문의 방법<sup>6)</sup>과 동일하게 실시하였다. 각 군 실험동물 수는 10마리를 기준으로 하되 최종 실험까지 생존하는 수를 기준으로 통계 자료를 산출하였다. 또한 음용수와 식이는 별도로 제한하지 않았다.

in vitro 실험의 경우는 in vivo로 납중독을 유도한 실험동물의 대퇴신경을 적출하여 사용하였으며, 실험동물군으로는 정상군(NC), 납(10 ppm)투여군(LT), 납과 Mo( $10^{-4}$  M)처리군(SM4), 납과 Mo( $10^{-5}$  M)처리군(SM5), 납과 Mo( $10^{-6}$  M)처리군(SM6)등 다섯 군으로 분류하였다. 이 경우 시험에 필요한 Mo의 처리농도는 경구로 투여하는 양을 혈액중 농도로 환산(대략 시험관내 농도로는  $10^{-5}$  M)하였으며, 효소활성의 Mo농도 의존성 여부를 알아보기 위하여  $10^{-4}$  M과  $10^{-6}$  M 두 농도를 추가로 설정하였다. 여기서 용어의 혼선을 피하기 위하여 in vivo로 납이나 Mo를 처리하는 경우는 투여로, in vitro 실험에서는 처리로 표현하였다.

또한 in vitro 실험을 통하여 Mo의 신경병변 개선 메커니즘을 알아보기 위한 실험의 경우, 납중독의 유도에 필요한 in vitro 농도는 in vivo 투여 농도를 기준( $10^{-5}$  M)으로 환산하였으며, 농도 의존성 여부를 관찰하고자  $10^{-4}$  M,  $10^{-5}$  M 그리고  $10^{-6}$  M 등 3개의 농도를 설정하여 1시간 동안 노출시킨 다음  $10^{-5}$  M 농도의 Mo로 30분간 처리하여 효소의 활성을 측정하였다. 여기서 Mo의 in vitro 처리 용량인  $10^{-5}$  M 역시 in vivo 투여량을 기준으로 환산하였다. 실험동물군으로는 정상군(NC), 납( $10^{-4}$  M)처리군(LT4), 납( $10^{-5}$  M)처리군(LT5), 납( $10^{-6}$  M)처리군(LT6), 납( $10^{-4}$  M) + Mo( $10^{-5}$  M)처리군(LT4+SM), 납( $10^{-5}$  M) + Mo처리군(LT5+SM), 납( $10^{-6}$  M) + Mo처리군(LT6+SM) 등 여덟 군으로 분류하였다.

### 2. 실험대상 장기 및 측정 지표의 선정

납으로 인한 신경계 독성에 관한 실험장기로서는 중추신경계보다는 단기적으로 납의 영향을 쉽

게 관찰할 수 있는 말초신경계를 택하였으며 그 중에서도 대사의 활발성과 실험의 용이성을 고려하여 대퇴신경을 선택하였다. 특히 실험 동물의 체온에 따라 신경자극에 대한 반응성이 달라지는 것을 배제하기 위하여 직장 내로 온도계를 삽입하여 마취시부터 신경을 분리하여 실험이 끝날 때까지 두 시간 간격으로 체온 변화를 확인하였다.

Mo의 신경계 myo-inositol 지질 대사 개선에 관한 측정 지표로서는 myo-inositol과 phosphatidic acid가 결합하여 phosphatidylinositol(monophosphoinositide : MPI)을 합성하는 첫 번째 단계에 관여하는 효소인 cystidine-diglyceride transferase (CDP-DG transferase)와 합성된 phosphatidylinositol의 4번 위치를 인산화 시켜 phosphatidyl-inositol-4-phosphate(diphosphoinositide : DPI)로 만드는 두 번째 단계에 관여하는 효소인 phosphatidylinositol kinase 그리고 phosphatidylinositol-4-phosphate (triphosphoinositide : TPI)의 5번 위치를 다시 인산화 시키는 세 번째 단계에 관여하는 효소 phosphatidylinositol-4-phosphate kinase 등 세 종류를 선정하여 납중독군과 Mo투여/처치군 사이의 활성변화를 비교하였다.

### 3. 효소활성측정을 위한 전처리

랫드의 대퇴신경을 적출하여 4마리의 신경을 합하여 0.32 M-sucrose/10 mM Tris- HCl buffer (pH 7.4) 3.0 ml를 가하고 균질화 한 후 200 g에서 5분간 원심 분리하여 침전물을 제거하여 각 효소의 활성 측정에 사용하였다.

### 4. CDP-DG transferase의 활성 측정

이 효소의 활성은 Salway 등<sup>7)</sup>의 방법을 응용하여 측정하였다. 25 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) 1 ml에 1 mM-MnCl<sub>2</sub> 1.5 mM-CDP-DG-potassium salt, 10 mM-2-[<sup>3</sup>H]-myo-inositol(0.5 uci/vial)등 농도가 되도록 조제한 배양액을 37°C에서 2분간 예비 배양 후 균질액 0.2 ml를 가하여 10분 동안 배양시킨 후 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1:2 vol/vol) 3.75 ml를 넣어 반응을 정지

시켰다. 형성된 phosphatidylinositol은 Garbus 등<sup>8)</sup>의 방법에 따라 추출하여 질소 가스로 용매를 날려보내고 그 잔사를 6.0 ml xylene phosphor 용액 (6 g의 2,5 diphenyloxazole과 0.12 g의 1,4-bis-(5-phenyloxazole-2-yl) benzene이 1000 ml의 xylene에 녹아있는 용액)에 녹인 후 이 용액 5 ml를 취하고 여기에 10 ml의 toluene scintillation 용액을 가하여 액체섬광계수기를 사용하여 방사선의 세기를 측정하고 이 값으로부터 효소 활성을 계산하였다.

### 5. Phosphatidylinositol kinase의 활성 측정

이 효소의 활성 측정은 Kai 등<sup>9)</sup>의 방법을 이용하였다. 20 mM-Tris/HCl-buffer (pH 7.4) 1 ml에 1 mM-phosphatidylinositol, 6 mM-sodium [<sup>32</sup>P]ATP, 30 mM-MgCl<sub>2</sub>의 농도가 되도록 조제한 배양액을 37°C에서 2분간 예비 배양과 균질액 0.2 ml를 가하여 5분 동안 추가로 배양시킨 후에 3.75 ml의 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(1:2 Vol/Vol)를 넣어서 반응을 정지시켰다. 생성된 phosphatidylinositol-4-phosphate 질소 가스하에서 농축시킨 후 carrier로서 표준품 phosphatidylinositol을 가하여 HPTLC 판에서 분리하여 10ml의 toluene phosphor 용액 5 g의 2,4-diphenyloxazole과 500 mg의 1,4 bis (5-phenyloxazol-2-yl) benzene이 toluene에 녹아있는 액에 넣고 액체섬광계수기를 사용하여 방사선의 세기를 측정하고 이 값으로부터 효소의 활성을 계산하였다.

### 6. Phosphatidylinositol-4-phosphate kinase의 활성 측정

이 효소의 활성은 phosphatidylinositol kinase와 유사한 방법으로 측정하였다. 20 mM-Tris/HCl-buffer (pH 7.4) 1 ml에 균질액 0.2 ml, 5 mM-sodium [<sup>32</sup>P]ATP, 30 mM-MgCl<sub>2</sub>, 2 mM-EDTA의 농도가 되도록 가하여 조제한 혼합액을 37°C에서 2분간 예비 배양 후 phosphatidylinositol

4-phosphate의 농도가 0.9 mM이 되도록 가한 다음 5분간 배양시켰다. 그 후 4.5 ml의  $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}(1:2 \text{ Vol/Vol})$ 을 가하여 반응을 정지시킨 후 생성된 phosphatidylinositol 4,5-phosphate를 추출하고 질소 가스하에서 농축시킨 후 carrier로서 표준품 phosphatidylinositol-4,5-diphosphate를 가한 후 phosphatidylinositol kinase의 경우와 동일한 방법으로 phosphatidylinositol 4,5-diphosphate를 분리하였으며 효소의 활성도 같은 방법으로 측정하였다.

## 7. 통계분석

실험 결과는 평균 $\pm$ SE로 표시하였다. 실험에 사용한 각 동물군간의 유의성 검증을 위하여 Anova test와 Duncan's multiple range test<sup>10)</sup>를 실시하였으며 P값이 0.05이하인 경우에만 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 납중독 유도에 필요한 투여 농도의 결정

이전에 발표한 논문<sup>6)</sup>에 근거하여 적어도 단기적으로 조직학적 병변이 나타나지 않으면서 실제적 환경노출농도에 가까운 10 ppm을 납중독 유도에 필요한 실험농도로 설정하였다.

### 2. 실험동물의 전반적인 특성

본 실험에서 사용한 실험 동물군의 몸무게, 물과 식이 섭취량, 체온변화 그리고 인지질 합성량 등을 Tab. 1에 제시하였다.

Tab. 1에서 알 수 있듯이 실험 동물간에 myo-inositol 인지질 합성속도를 제외한 다른 지표들에 대해서는 어떤 유의적인 변화도 관찰되지 않았다. 다만 몸무게의 경우, 납중독군에 있어서 정상군에 비하여 몸무게가 20% 정도 감소하는 것으로 관찰되었다. 그러나 체중 감소에도 불구하고 식이 섭취

능력과 직장의 온도는 정상으로 유지되고 있어 이러한 현상이 급성의 중급속 중독 초기에 흔히 관찰되는 대사 이상에 기인한 체중 감소 현상으로 사료된다.

### 3. CDP-DG transferase 활성에 미치는 Mo의 영향

Fig. 1에 제시한 바와 MPI 합성에 관여하고 있는 이 효소의 활성은 정상군에 비해 납중독군에서 현저하게 감소되어 있으나 Mo를 투여하게 되면 정상 상태 활성의 80% 정도까지 개선되는 것을 관찰 할 수가 있다. 그러나 정상군의 경우는 Mo 투여에 의하여 유의성 있는 활성 변화를 관찰 할 수 없었다.

이러한 실험결과는 Mo는 일차적으로 MPI 합성의 첫 단계의 효소의 활성을 증가시켜 납중독 상태에서 감소된 대퇴신경내 인지질 대사를 정상화 시킴으로써 신경병변을 개선시킬 수 있다 점을 시사하고 있다. 특히 Mo는 정상상태에서는 이 효소

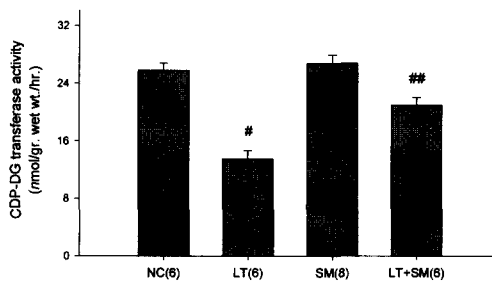


Fig. 1. Effects of Mo on CDP-DG transferase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean $\pm$ SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. Mo(1 mg/kg/day) was administered per oral for 3 weeks. The same volume of distilled water was administered to a control group. NC; normal control group, LT; lead(10 ppm)-treated group, SM; Mo(1 mg/kg)-treated group. LT+SM; lead(10 ppm) and Mo(1 mg/kg)-treated group. #P<0.05, compared with normal control group, ##P<0.05, compared with lead(10 ppm)-treated group.

활성에 별다른 영향을 주지 않는 것으로 미루어 납중독 상태에서만 선택적으로 작용하는 특성을 갖는 것으로 추정된다.

계속하여 인지질 대사에 미치는 Mo의 영향을 살펴보기 위하여 myo-inositol 인지질 합성의 두 번째 단계에 작용하는 효소에 대한 활성을 측정하였다.

#### 4. Phosphatidylinositol kinase 활성에 미치는 Mo의 영향

Phosphatidylinositol kinase 효소 역시 Fig. 2에 제시된 바와 같이 납중독군의 경우, 효소활성이 정상군에 비하여 35% 정도 감소되었으나 Mo의 투여에 의하여 정상상태의 68% 정도까지 회복되는 것을 관찰할 수 있다. 그러나 회복되는 정도가 첫 번째 단계의 효소 활성에 비하여 다소 낮은 것( $P < 0.05$ )으로 밝혀졌다. 이러한 실험 결과는 Mo가 인지질 대사의 초기 단계에 보다 선택적으로 작용하여 납중독에 의한 신경병변을 개선하는 것으로 추정할 수 있다.

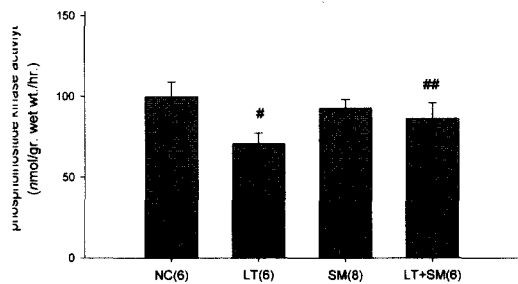


Fig. 2. Effects of Mo on phosphoinositide kinase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean  $\pm$  SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. Mo(1 mg/kg/day) was administered per oral for 3 weeks. The same volume of distilled water was administered to a control group. NC; normal control group, LT; lead(10 ppm)-treated group, SM; Mo(1 mg/kg)-treated group. LT+SM; lead(10 ppm) and Mo(1 mg/kg)-treated group. # $P < 0.05$ , compared with normal control group, ## $P < 0.05$ , compared with lead(10 ppm)-treated group.

#### 5. Phosphatidylinositol-4-phosphate kinase 활성에 미치는 Mo의 영향

계속하여 Mo이 인지질 대사의 마지막 단계에 미치는 영향을 알아보기 위하여 DPI로부터 TPI를 합성하는 효소의 활성에 미치는 영향을 실험한 결과를 Fig. 3에 표시하였다. 이 효소의 경우 납중독 상태에서 활성이 유의성 있게 감소되지만 이전 두 단계에 관여하는 효소 활성 감소에 비하여 현저하게 낮은 것( $P < 0.05$ )으로 나타났다. 뿐만 아니라 납중독군에 Mo를 투여하더라도 효소의 활성에는 유의성 있는 어떠한 변화도 나타나지 않았다. 이러한 실험결과를 통하여 납은 신경 조직에서 myo-inositol 인지질 대사관련효소의 활성을 전반적으로 저하시켜서 말초 신경계 병변을 유발한다는 점을 추정할 수가 있다.

뿐만 아니라 Mo 투여에 의한 납중독성 신경병변 개선 메커니즘은 적어도 myo-inositol 인지질 합성에 관여하는 효소 중 초기 두 단계 효소에 보다 선택적으로 작용하여 인지질 대사를 어느 정도 정상화시키는 것으로 예측할 수 있다.

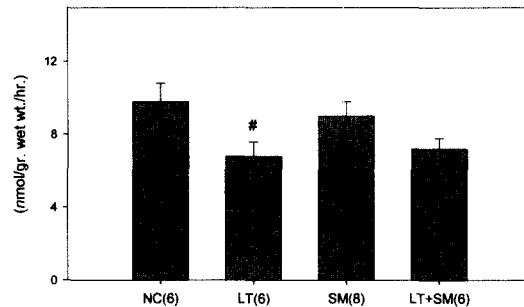


Fig. 3. Effects of Mo on diphosphoinositide kinase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean  $\pm$  SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. Mo(1 mg/kg/day) was administered per oral for 3 weeks. The same volume of distilled water was administered to a control group. NC; normal control group, LT; lead(10 ppm)-treated group, SM; Mo(1 mg/kg)-treated group. LT+SM; lead(10 ppm) and Mo(1 mg/kg)-treated group. # $P < 0.05$ , compared with normal control group.

여기서 Mo에 의한 인지질 대사 활성 증가가 Mo이 해당 효소에 직접적으로 작용한 결과인지 혹은 다른 대사 경로의 활성화를 통한 간접적으로 작용한 결과인지를 알아보기 위하여 *in vivo*로 납 중독을 유도한 실험동물의 대퇴신경을 적출하여 *in vitro* 상에서  $10^{-4}$  M- $10^{-5}$  M 농도범위의 Mo를 처치한 후 관련 효소들의 활성 변화를 측정 한 실험 결과를 Fig. 4~6에 제시하였다.

### 5. 인지질 대사 관련 효소들의 활성에 미치는 Mo의 영향(*in vitro*)

Fig. 4~6에서 알 수 있듯이 *in vivo* 실험에서와 마찬가지로 Mo 처치에 의하여 인지질 합성에 관여하는 첫 번째 단계와 두 번째 단계 효소의 활성이 현저하게 정상화되는 것을 관찰 할 수가 있다. 다만 *in vivo* 실험에 비하여 정상화되는 정도가 훨씬 큰 것으로 밝혀졌는데 이는 아마 *in vivo* 실험의 경우, Mo을 경구로 투여하면 혈액을 통하여 간으로 수송된 다음 대사 되어 신경계에 작용하지만 *in vitro* 실험의 경우는 Mo이 신경계에 직접 접촉하는 관계로 상대적으로 효소활성의 증가가 큰 것으로 사료된다.

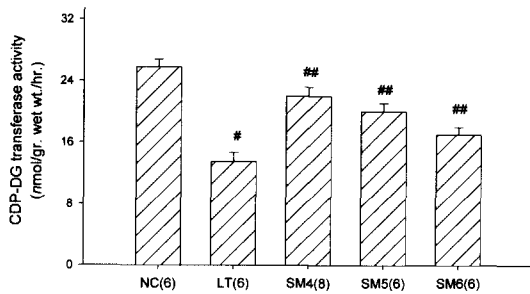


Fig. 4. *in vitro* Effects of Mo on CDP-DG t-transferase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean  $\pm$  SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. NC; normal control group, LT; lead(10 ppm)-treated group, SM4; Mo( $10^{-4}$  M)-treated group, SM5; Mo( $10^{-5}$  M)-treated group, SM6; Mo( $10^{-6}$  M)-treated group. #P<0.05, compared with normal control group. ##P<0.05, compared with lead(10 ppm)-treated group.

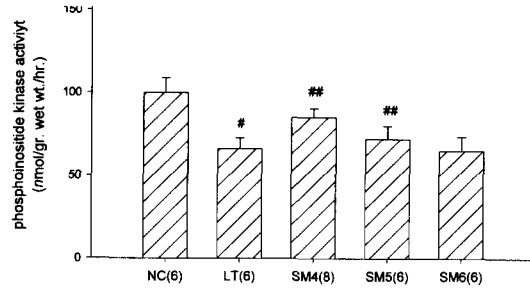


Fig. 5. *in vitro* Effects of Mo on phosphoinositide kinase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean  $\pm$  SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. NC; normal control group, LT; lead(10 ppm)-treated group, SM4; Mo( $10^{-4}$  M)-treated group, SM5; Mo( $10^{-5}$  M)-treated group, SM6; Mo( $10^{-6}$  M)-treated group. #P<0.05, compared with normal control group. ##P<0.05, compared with lead(10 ppm)-treated group.

또한 phosphatidylinositol-4-phosphate kinase 활성의 경우, *in vivo* 실험과는 달리 *in vitro* 실험에서는 고농도의 Mo( $10^{-4}$  M과  $10^{-5}$  M)에서는 효소의 활성이 유의성 있게 증가되는 것으로 나타났다. 이러한 결과 역시 Mo가 간 대사를 거쳐 작용

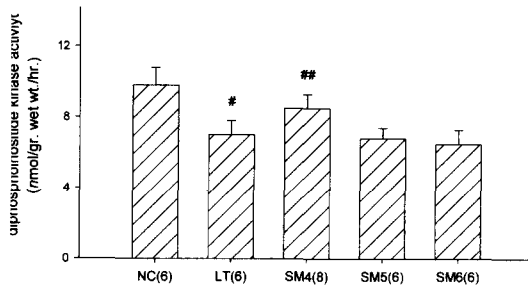


Fig. 6. *in vitro* Effects of Mo on dipinositide kinase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean  $\pm$  SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. NC; normal control group, LT; lead(10 ppm)-treated group, SM4; Mo( $10^{-4}$  M)-treated group, SM5; Mo( $10^{-5}$  M)-treated group, SM6; Mo( $10^{-6}$  M)-treated group. #P<0.05, compared with normal control group. ##P<0.05, compared with lead(10 ppm)-treated group.

하지 않고 효소에 직접 작용하기 때문인 것으로 추정된다. 여기서 효소 활성이 증가되는 패턴이 Mo의 농도가 증가하는 것과 비례하는 것으로 미루어 myo-inositol 인지질 관련 효소의 활성은 Mo 농도 의존성을 보이는 것으로 사료된다. 이러한 결과는 Flora S.J.S 등<sup>12)</sup>의 실험결과와도 거의 일치하고 있다.

계속하여 Mo의 납중독에 의한 신경계 병변 개선 메커니즘을 납중독 유도 메커니즘과 연관시켜 분석하기 위하여 정상군의 대퇴 신경을 적출하여  $10^{-4}$  M,  $10^{-5}$  M(기준농도) 그리고  $10^{-6}$  M 등 3가지 납농도에 걸쳐 노출시킨 다음 계속하여  $10^{-6}$  M의 Mo를 30분 동안 처치한 실험 결과를 Fig. 7~9에 제시하였다.

### 6. 납농도 변화에 따라 Mo가 인지질 대사 효소 활성에 미치는 영향(in vitro)

Fig. 7~9에서 알 수 있듯이 납을 직접 신경 조직에 처치할 경우 신경계에 존재하는 효소의 활성이 매우 빠르게 억제되는 것을 관찰할 수가 있다.

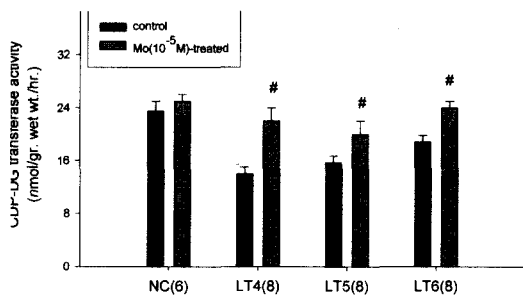


Fig. 7. in vitro Effects of Mo on CDP-DG transferase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean  $\pm$  SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. NC; normal control group, LT4; lead ( $10^{-4}$  M)-treated group, LT5; lead( $10^{-5}$  M)-treated group, LT6;lead( $10^{-6}$  M)-treated group. #P<0.05, compared with lead-treated group in each experiment. The in vitro concentration of Mo was  $10^{-5}$  M.

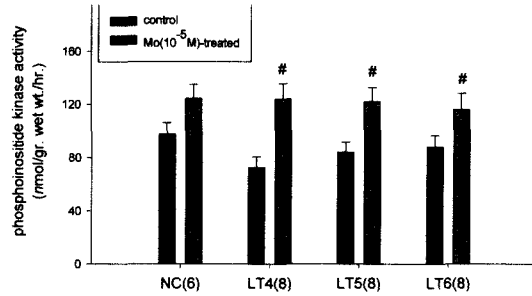


Fig. 8. in vitro Effects of Mo on phosphoinositide kinase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean  $\pm$  SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. NC; normal control group, LT4; lead( $10^{-4}$  M)-treated group, LT5; lead( $10^{-5}$  M)-treated group, LT6;lead( $10^{-6}$  M)-treated group. #P<0.05, compared with lead-treated group in each experiment. The in vitro concentration of Mo was  $10^{-5}$  M.

이러한 현상은 납의 농도가 증가됨에 따라 활성이 더욱 억제되기 때문에 효소활성은 납처리 농도에 매우 의존적인 것으로 밝혀졌다. 그러나 계속하여 Mo를 처치할 경우 억제된 효소의 활성이 거의 정상적인 수준으로 회복되는 것으로 나타났으며, 특히 회복되는 속도가 in vivo 실험에 비하여 현저

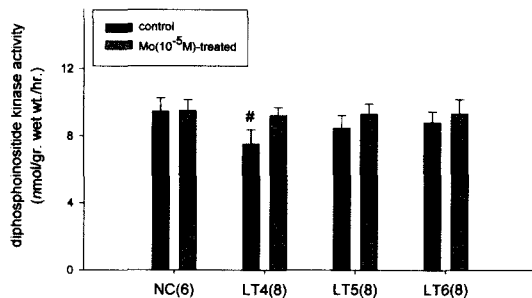


Fig. 9. in vitro Effects of Mo on diposphoinositide kinase activities in sciatic nerves isolated from experimental rats. Each value is mean  $\pm$  SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. NC; normal control group, LT4; lead( $10^{-4}$  M)-treated group, LT5; lead( $10^{-5}$  M)-treated group, LT6;lead( $10^{-6}$  M)-treated group. #P<0.05, compared with lead-treated group in each experiment. The in vitro concentration of Mo was  $10^{-5}$  M.

하게 빠른 특성을 갖는 것으로 나타났다. 이는 *in vivo* 실험에 비하여 *in vitro*의 경우 납에 노출되는 시간이 절대적으로 짧는데(급성독성) 비하여 Mo의 처치는 상대적으로 직접적인 만큼 회복속도가 현저하게 증가에 하는 것으로 사료된다.

이상의 실험결과들을 종합하면 Mo의 납중독성 신경병변 개선 메커니즘은 신경세포내로 수송된 myo-inositol이 phosphoinositide로 전환되는 대사과정 중 첫 번째 단계와 두 번째 단계에 관여하는 효소에 선택적으로 작용하여 병변을 개선하며 이러한 효과는 다른 대사 경로의 활성화 등과 같은 간접적인 경로가 아닌 직접적으로 작용하는 메커니즘인 것으로 사료된다.

향후 이러한 실험 결과를 바탕으로 다른 유사한 중금속 중독에 의한 Mo의 신경계 병변 예방 가능성에 대한 지속적인 연구는 물론 환경오염으로 인한 신경계 병변 치료제로서의 응용 가능성에 대한 연구를 시도해 보고자 한다.

#### IV. 결 론

4주령의 수컷 albino rat를 사용하여 Mo이 대퇴신경내 myo-inositol 인지질 대사에 관된 효소활성에 미치는 영향을 실험한 본 연구의 결론은 다음과 같다.

1. Mo은 납중독 랫드의 myo-inositol 관련 인지질 대사를 80%까지 정상화시키는 것으로 나타났다.
2. Mo의 납중독 개선 메커니즘은 신경 조직내 인지질 대사에 관여하는 효소 중 첫 번째 단계와 두 번째 단계에 관여하는 효소에 선택적으로 작용하여 활성을 정상화시키는 것으로 밝혀졌다.
3. Mo은 인지질 대사 관련 효소에 직접 작용하여 활성을 증가시키며, 증가되는 패턴은 Mo의 농도에 비례하는 것으로 밝혀졌다.
4. Mo은 신경계 납중독인 경우, 특히 급성병변을 개선하는 정도가 탁월한 것으로 밝혀졌다.

#### V. 참고문헌

1. Michell R.H. : Inositol phospholipids and cell surface receptor function, *Biochimicaet Biophysica Acta*, 415, 81, 1975.
2. Berridge M.J. and Irvine R.F. : Inositol phosphate and cell signaling, *Nature*, 341, 197, 1989.
3. Ferris C.D. and Snyder S.H. : Inositol 1,4,5-triphosphate-activated calcium channels *Annu. Rev. Physiol.* 54, 469, 1992.
4. Sheltawy A. and Dawson R.M. : The polyphosphoinositides and other lipids of peripheral nerves. *Biochem., J.*, 100, 12, 1986.
5. Hendrikson H.S. and Reinertsen J.L. : Phosphoinositide interconversion : A model for control of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> permeability in the nerve axon membrane, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 44, 1258, 1971.
6. 박성환, 정명규, 광영규 : Sodium molybdate의 납중독 랫드의 말초신경내 인지질 대사에 미치는 영향, *대한위생학회지*, 16(3), 14, 2001.
7. Salway J.G. : Enzymes of phosphoinositide metabolism during rat brain development., *J. Neurochem.*, 15, 221, 1968.
8. Garbus J., Archer A.G., Roberts V.C. and Watkins P.J. : Blood flow patterns in painful diabetic neuropathy., *J. Biol. Chem.*, 238, 59, 1963.
9. Kai M., Bioche J.N., Edmonds M.E., Roberts V.C. and Watkins P.J. : Blood flow in the diabetic neuropathic foot., *J. Neurochem.*, 101, 328, 1968.
10. Jerry, L. H. : Number, Cruncher, Statistical system, Kaysville Uta, 1987.
11. Flora S.J.S., JeevaratamK., and Kumer D. : Preventive effect of sodium moybdate in lead intoxication in rats. *Ecotox. Environ. Safety*, 26, 133, 1993.