

桑葉 추출물이 흰쥐의 카드뮴 에어로졸 흡입독성에 미치는 영향

박재수 · 정재열^{1*} · 이택준 · 강성호¹ · 송용선¹ · 이기남¹

원광대학교 대학원 한의학과, 1: 원광대학교 한의학전문대학원 제3의학과

Effects of Extracts of Folium Mori on Cadmium Aerosol Inhalation Toxicity in Rats

Jae Soo Park, Jae Yeal Jeung^{1*}, Taek Jun Lee, Sung Ho Kang¹, Young Sun Song¹, Ki Nam Lee¹

Department of Oriental Medicine, Graduate School of Wonkwang University,

1: The Third Medicine, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

To experiment the effects between cadmium inhalation toxicity and extracts of Folium Mori, rat inhalation exposure groups were exposed to cadmium aerosol in air by whole-body inhalation exposure for 6 hours/day, 5 days/week, and 4 weeks. Cadmium concentration in the air of cadmium aerosol was 1.02mg/m³ and mass median diameter(MMD) was 1.40μm. Intraperitoneal injection of extracts of Folium Mori to inhalation exposure groups was done for 4 weeks and the results were as follows: The highest body weight gain for 4 weeks and food intake per day were 126.39g/4 weeks and 19.18g/day from inhalation exposure group III, respectively. The highest lung and liver weight were 1.27g and 8.19g from inhalation exposure group II, respectively. The highest kidney weight was 1.805g from inhalation exposure control. The lowest cadmium content in lung was 86.39μg/g from inhalation exposure group III. The lowest cadmium concentration in blood was 7.12μg/dl from inhalation exposure group III. Cadmium concentrations of 40.02μg/g in liver and 69.18μg/g in kidney were the lowest from inhalation exposure group I and III, respectively. For weekly cadmium concentration in urine, the value of the fourth week from inhalation exposure group III was the highest, 3.12μg/ml. For weekly cadmium concentration in feces, the value of the fourth week from inhalation exposure group III was the highest, 2.67μg/g. The highest metallothionein concentration in lung was 74.65μg/g from inhalation exposure group III and the highest metallothionein concentration in liver was 386.84μg/g from inhalation exposure group II. The highest metallothionein concentration in kidney was 236.17μg/g from inhalation exposure group II.

Key words : Cadmium Inhalation Toxicology, Cadmium Aerosol, Folium Mori, Whole-body Inhalation Exposure, Metallothionein

서 론

사람은 산업장에서 오염된 공기를 그대로 흡입하거나 오염된 식품을 섭취하여 카드뮴에 暴露된다. 과량의 暴露는 카드뮴 광산 및 제련, 카드뮴 색소의 생산 또는 이용, 합금(용접과 땀질을 포함), 표면코팅, PVC의 안정제, 알칼리 축전지 생산, 및 카드뮴을 함유하는 폐기물을 처리하고 재활용하는 곳에서 발생하며 인체로의 흡수는 흡입에 의한 것이 대부분이다¹⁾.

카드뮴은 체내에서 긴 반감기를 가지고 있기 때문에²⁾, 주요한

관심사중 하나는 산업장에서 작업자에 대한 적합한 직업적 暴露 수준의 선택이다. 오늘날까지, 暴露수준은 카드뮴 수준에만 기초를 두고 설정되었고 여러 가지 다른 카드뮴 화합물이 입자크기와 용해도와 같은, 그들의 본질적인 특성의 결과로 명확하게 다른 독성을 제시할 수 있다는 가능성을 고려하지 않았다. 카드뮴 흡입 暴露 후 체내에 빠르게 흡수된다고 보고되고 있다고 할지라도, 흡입 暴露 후 흡수 백분율에 대해 이용할 수 있는 정보는 없다³⁾. 카드뮴 暴露 후, 카드뮴은 호흡기계와 소화기 양자를 통해 흡수되고 초기에 간에서 발견되는 것으로 나타났다. 간에서 카드뮴은 신장으로 운반된다. 이 운반은 metallothionein을 이용하는 것으로 증명되었다. 신장에서 생물학적 반감기는 10에서 30년인 것으로 보고되고 있다²⁾. 소량이 소변으로 배설된다.

* 교신저자 : 정재열, 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의학전문대학원

E-mail : jeayeal@wonkwang.ac.kr, Tel : 063-850-6941

· 접수 : 2002/09/23 · 수정 : 2002/10/30 · 채택 : 2002/12/05

일반적으로 소변에서의 수준은 만성暴露를 반영하고 최근 暴露에 대해 좋지 않은 지표인 반면에³⁾, 가능한 간장에서의 보유 결과로, 높은 수준의 일시적인 暴露는 소변 카드뮴 수준에서 순간적인 증가를 유발할 수 있는 것으로 또한 보고되고 있다. 인간에서 급성의 고농도 카드뮴 흡 暴露는 폐 부종 그리고 신장의 회저(necrosis)와 연관되어 있다. 비록 폐기종, 폐 기능의 감소 그리고 경미한 방해성 폐 질환이 cadmium sulfide, cadmium-zinc sulfide, cadmium carbonate 그리고 카드뮴 흡 暴露와 연관성이 있다고 할지라도²⁾, 만성暴露는 일차적인 신장장애와 연관되어 있다. 산업장에서 카드뮴과 그 화합물을 다루는 작업자의 흡입에 의한 카드뮴 중독은 효과적으로 치료하기가 어렵고 킬레이트 요법이 추천되고 있으나 일부의 킬레이트제는 신장독성으로 인해 사용이 엄격히 제한되고 있고 카드뮴에 暴露된 후 즉시 투여되었을 때 효과가 있고 만성적으로 暴露되었을 때는 급속히 효과가 떨어지다고 한다^{5,6)}. 세계보건기구에서는 직업적 카드뮴 중독에 대해 특별한 의학적 치료방안이 없다고 하여 의학적, 공학적 예방조치의 중요성을 강조하고 있다¹⁾. 강성호 등⁷⁾은 한약재에서 추출한 성분으로 카드뮴에 흡입 중독된 흰쥐에서의 독성완화 효과를 보고한 바 있고 일부 연구는 카드뮴 중독에 대한 한약재 추출물의 경구 투여를 통한 독성완화 효과를 보고하고 있으며⁸⁾ 이러한 접근방안에 대한 연구의 중요성을 언급하였다. 카드뮴 흡입 暴露에 의한 체내로의 흡수는 폐를 통해서이고 혈액을 통해 표적장기인 간장과 신장에 분포되고 배설되는 과정을 거친다.

이에 본 연구는 한의학에서 清肺止咳, 凉血止血, 그리고 滋養肝腎 등의 용도로 사용되는 한약재중 폐, 혈액, 간장, 그리고 신장의 병증을 다스리는데 사용되는 桑葉(Folium Mori)을 문헌 고찰과 예비실험 과정을 거쳐 선정하였다. 카드뮴 에어로졸에 흡입 暴露된 흰쥐의 혈액을 포함한 폐, 간장, 신장의 카드뮴 농도, 그리고 폐, 간장, 신장의 metallothionein 농도, 배설의 지표인 소변과 대변의 카드뮴 농도를 위주로 桑葉 물 추출물의 효과를 연구하였고 흡입독성학의 기본적 평가요소인 식이섭취량, 체중증가량, 장기의 무게와 같은 변수를 추가로 조사하였고 이를 통해 桑葉 물 추출물의 카드뮴 흡입 暴露에 대한 영향을 조사하여 카드뮴의 흡입 暴露로 인한 독성 연구에 기초자료를 제공하고자 시도하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

카드뮴 흡입 暴露 실험을 위해 50마리 웅성(200-220g) Sprague-Dawley CD 흰쥐를 이용하였다. 흰쥐는 흡입 暴露 전에 최소 10일 동안 순응시켰다. 흰쥐들은 실험을 위해 각각 10마리로 무작위로 5개 그룹으로 분류되었다. 모든 흰쥐들은 12시간 조명주기가 있는 온도 대략적으로 23℃ 그리고 습도 대략적으로 50%가 제어되는 룸에 살게 하였다. 삼양유지사료(주)의 마우스(쥐)용 배합사료 그리고 1차 증류수는 흡입 暴露 동안 제외하면 자유로이 공급되었다. 카드뮴 에어로졸 흡입 챔버에서 흡입 暴露

시 暴露시작 1시간 후 그리고 暴露종료후 1시간 후 하루에 2회 관찰하였다. 체중은 흡입 暴露 시작일 그리고 흡입 暴露 종료일 후 죽기 전까지 전자저울을 이용하여 매주 토요일에 측정하였으며 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감하여 실험기간중의 체중 증가량으로 하였다.

2) 검액의 조제

본 실험에 사용한 桑葉은 경상북도 상주시 외서면에서 가을 철에 서리가 내린 후 채취하여 햇볕에 말려 시료로 사용하였다. 건조시킨 후 분쇄기로 마쇄 하여 분말을 만들었다. 등근 플라스크에 桑葉 분말과 분말의 용량 5배에 해당하는 증류수를 첨가하여 50℃ 수욕조에서 진탕시키면서 24시간 동안 3회 추출하였다. 추출후 5000×g에서 30분간 원심분리시킨 다음 여과하여 회전 농축기(Rotary Evaporator N-1000, Eyela)에서 감압하고 농축하였고 그 후 동결 건조기에서 -40℃에서 3일간 완전히 건조시켜 정제된 건조 추출물 50.7g(수율 8.5%)를 얻었으며 이 시료를 필요에 따라 3차 증류수로 희석하여 검액으로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험설계

실험 디자인과 방법은 표 1에 제시되어있고 카드뮴 대조군과 흡입 暴露군이 暴露되는 공기중 카드뮴 에어로졸의 농도는 1 mg/m³ 그리고 질량중위수직경(Mass Median Diameter: MMD)은 1.3µm로 설정하였으며 카드뮴 에어로졸 흡입 暴露 4주간 그리고 桑葉 물 추출물의 복강내 투여를 각각 4주간 수행하였다. 흰쥐들은 챔버 밖에 있는 동안에는 흰쥐 사육 케이지에 있게 하였고 흡입 챔버에 있는 동안에는 10마리를 그룹으로 하여 카드뮴 에어로졸에 흡입 暴露시켰다. 흰쥐는 1주일에 1회 소변과 대변 시료의 채취를 위해 대사 케이지에 각각 있었다. 대사 케이지는 사용하기 전에 카드뮴 오염을 감소시키고자 증류수로 세정한 후 10% 질산으로 세척하여 사용하였다⁹⁾.

Table 1. Inhalation Exposure Design and Treatment of Extracts of Folium Mori

Group	N	Cd Concentration (mg/m ³)	MMD* of Cd Aerosol(µm)	Dosage of Extracts(mg/kg)
Normal	10	0	-	-
Control	10	1	1.3	Saline Only
Treated I	10	1	1.3	20
Treated II	10	1	1.3	40
Treated III	10	1	1.3	80

*Mass Median Diameter.

2) 흡입 챔버와 카드뮴 에어로졸 흡입 暴露

카드뮴 대조군과 흡입 暴露군에 대한 카드뮴 에어로졸의 흡입 暴露는 1일 6시간, 1주 5일, 그리고 4주간 수행하였다. 흡입 暴露 실험동안 흰쥐가 머물러 있었던 스테인레스 스틸로된 흡입 暴露 챔버는 전체 용적 0.66m³이었고 유효용적은 0.50m³이었다. 장치는 설정된 暴露농도를 발생시키고자 여러 가지 유량에서 동력학적으로 작동되었다. 유입공기의 입자제거를 위한 입자상 필터가 장착된 챔버, ultrasonic nebulizer 원리를 이용하는 에어로졸

발생기, 4개의 팬으로 구성된 배합챔버, 스테인레스 스틸로 제작된 흡입(暴露)챔버(상방 흡입, 하방 배출), 배출되는 공기를 정화하기 위한 HEPA 필터가 장착된 챔버로 구성되어있으며 공기의 이동과 용량 조절은 HEPA 필터가 장착된 챔버에서 송풍기와 덤퍼를 이용하여 이루어졌다. 개략적인 배치도는 그림 1과 같다. 에어로졸 발생기에서 네블라이징 되는 용액의 온도는 20℃이었고 주 덕터로 유입되기 전의 입구 덕터의 온도는 20℃이었다. 흡입暴露 챔버내의 카드뮴의 공기중 농도와 그 변화를 관찰하고자 1주일에 5회 NIOSH 분석방법 P&CAM 173에 기초하여 개인시료포집기(224-PCXR8, SKC)를 이용하여 흡입暴露챔버 내의 공기시료가 포집되었고 시료포집유량은 1.5LPM(Liter Per Minute)으로 필터는 cellulose ester membrane 필터(225-5, SKC)를 이용하였다. 카드뮴 에어로졸의 입자크기분포(particle size distribution)와 입자의 크기는 5 채널 입자 카운터(Particle Counter KC-01C, Rion)를 이용하였다. 각각의 입자 직경에 대한 계수는 수동모드에서 5초 동안 동시에 공기용적 0.042 l에 대해 수행하였으며 10회 반복 측정하여 분석자료로 이용하였다. 측정된 각 입경별 계수는 Hinds¹⁰⁾가 제시하는 아래의 공식을 이용하여 기하평균입경, 기하표준편차, 그리고 질량중위수입경을 계산하였다.

$$\log d_g = \frac{\sum n_i \log d_i}{\sum n_i}$$

dg: 기하평균입경, μm , ni: 입자계수, di: 대표경, μm

$$\log \sigma_g = \left[\frac{\sum n_i (\log d_g - \log d_i)^2}{\sum n_i - 1} \right]^{1/2}$$

σ_g : 기하표준편차, dg: 기하평균입경, μm , ni: 입자계수, di: 대표경, μm

$$\log d_{mmd} = \log d_g + 6.9 \log^2 \sigma_g$$

d_{mmd}: 질량중위수입경, μm , dg: 기하평균입경, μm , σ_g : 기하표준편차

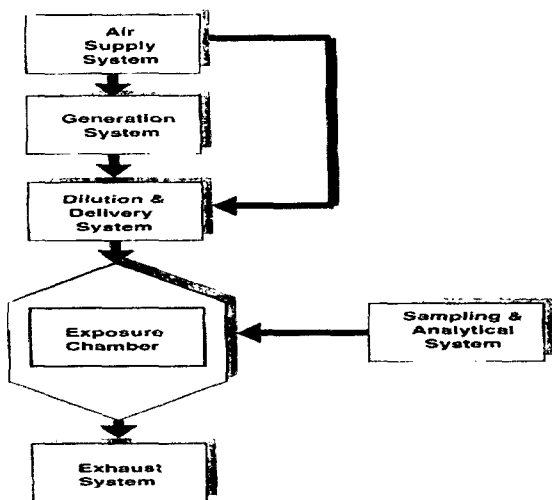


Fig. 1. Inhalation Exposure System for Cadmium Aerosol.

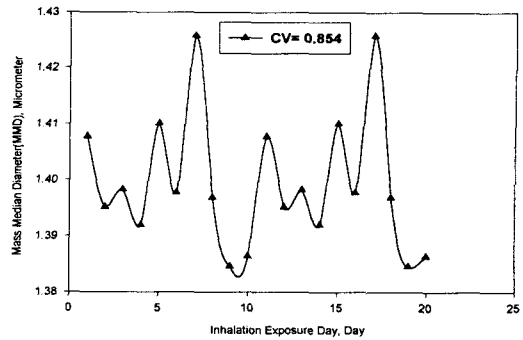


Fig. 2. Mass Median Diameter and Its Coefficient of Variation.

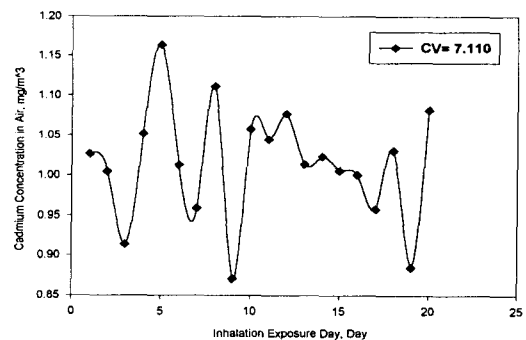


Fig. 3. Variation of Cadmium Concentration in Air and Its Coefficient of Variation.

카드뮴 에어로졸에 대한 흰쥐의 흡입暴露 실험이 진행되는 동안에 흰쥐가 흡입·暴露된 카드뮴 에어로졸의 질량중위수입경, 그리고 공기중 농도는 그림 2, 3과 같다. 카드뮴 에어로졸 기하평균입경은 0.68 μm , 기하표준편차는 1.64, 질량중위수입경은 1.40 μm 이었고 공기중 카드뮴 농도는 1.02mg/m³이었다. 변이계수는 기하평균입경의 경우 0.38, 기하표준편차의 경우 0.16, 질량중위수입경의 경우 0.85, 그리고 공기중 카드뮴 농도의 경우 7.11이었다.

3) 시료의 분석방법

4주간의 흡입暴露에서 얻어진 공기시료는 전처리 과정을 거쳐 카드뮴 함량에 대해 분석하였다. 소변과 대변 시료는 暴露 후 매주 토요일에 대사 케이지 그리고 관련된 도구를 이용하여 채취하였고 카드뮴 함량에 대해 분석하였다. 소변의 용적과 대변의 중량은 각각의 농도 계산을 위해 기록하였다. 흡입暴露와 桑葉 추출물의 투여 실험종료 마지막 날에 정상군 그리고 흡입暴露군은 에테르 마취 하에 복부 대동맥으로부터 헤파린 처리된 시험관에 혈액 시료를 채취하였고 폐, 간장, 그리고 신장시료를 분리하여, 폴리에틸렌 바이알에 패킹시켜 전처리를 수행하기 전까지 냉장고에 보관하였다.

(1) 공기시료

필터시료와 공시료의 전처리와 분석은 P&CAM 173에 기초하여 진행하였다. 시료와 공시료는 깨끗한 125ml 비이커에 옮기고 6.0ml 질산을 넣는다. 각 비이커를 시계접시로 덮고 시료가 용해되어 약간 노란 용액이 형성될 때까지 흡 후드에서 표면온도가 165℃인 핫 플레이트상에서 가열시킨다. 회화가 완결되면, 시

계점시를 제거하고, 10% HNO₃로 시료 비이커를 헹군다. 그리고 난 다음 비이커를 100℃ 스티프 욕조에 놓고 건조되게 한다.

일단 시료가 건조되고난 후에, 10% HNO₃ 3-5ml로 비이커의 벽을 행구고 잔류물의 용해를 위해 100℃에서 5분간 재가열한다. 이 용액은 10% HNO₃와 함께 정량적으로 10ml 용량 플라스크에 옮기고 10% HNO₃로 용량까지 희석한다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. 필터 시료에서 카드뮴의 농도계산은 아래와 같다.

$$\mu\text{g cadmium}/\text{m}^3 = \frac{(C \times VA) - B}{V \times F}$$

여기서: C= 시료에서 농도, $\mu\text{g}/\text{ml}$, VA= 시료의 용적, ml, B= 공시료에서 금속의 농도, μg , F= 시료의 용적에서 측정애 이용되었던 시료 용적의 분율, V= 시료포집된 공기의 용적, m³

(2) 혈액, 조직, 및 대변 시료의 카드뮴

혈액 및 조직 시료의 전처리와 분석은 NIOSH 분석방법 8005¹¹⁾에 의해 비이커에 정확하게 칭량된 양 10g의 혈액, 1.0g의 습한 조직(폐, 간, 신장, 장)을 옮기고 혈액시료에 10ml digestion acid 또는 각각의 조직 시료에 5.0ml digestion acid를 넣었다. 변 시료는 110℃ 건조기에서 항량이 될 때까지 건조시켜서 550℃ muffle furnace에서 회화 시켜 1g를 시료로 이용하였다. 2시간 동안 110℃에서 가열하였고 시약 공시료(reagent blanks)와 같이 시작하였다. 250℃까지 hotplate의 온도를 올리고 1ml(혈액) 또는 0.5ml(조직)가 남을 때까지 가열하였다. 비이커를 냉각시켰다. 그리고 난후 용량 플라스크(혈액에 대해 10ml; 조직에 대해 5ml)로 비이커에 들어있는 내용물을 옮기고 탈이온수로 눈금선까지 희석하였다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. 시료에서 각 금속에 대해 측정된 용액농도, Cs($\mu\text{g}/\text{ml}$)에 평균 공시료 수치, Cb($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 고려하여 시료의 농도를 계산하였고 혈액에 대해서는 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 폐, 간, 신장, 장, 그리고 변에 대해서는 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 환산하였다.

$$C = \frac{CsVs - CbVb}{M}, \mu\text{g}/\text{g}$$

(3) 소변중 카드뮴

1ml의 소변을 digestion tube에 옮기고 0.2ml 진한 질산을 넣고 digestion tube를 heating block에 넣어 약 3시간 동안 비점 이하의 온도에서 회화시켰다. 용량이 약 1/3으로 감소되었을 때, 30% H₂O₂ 0.4ml를 넣고 시료가 증발되어 거의 건조될 때까지 계속 가열하였다. 다음에 digestion tube를 냉각시킨 후 잔유물(residue)을 1% 질산에 용해시켰고 분석에는 20 μl 씩 주입하였다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. 시료 용액의 농도, 그리고 분석자료에서 공시료 평균, Cs($\mu\text{g}/\text{ml}$), Cb($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 계산하였

다. 시료 용액의 용적, Vs(ml), 그리고 공시료의 용적, Vb(ml)를 이용하여, 채집된 소변의 용적, V(l)에서 각각의 금속 농도, C($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 계산하였다.

$$C = \frac{CsVs - CbVb}{V} \times 10^3, \mu\text{g}/\text{ml}$$

(4) 폐, 간장, 및 신장의 metallothionein

일정량의 폐, 간장, 그리고 신장 조직을 동일한 부피의 10mM Tris-HCl buffer(pH 7.4, 4℃)로 균질화 시키고 10,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다(4℃ 유지). 다음에 boiling water bath에서 2분간 가열하고 냉각시킨 후 10,000rpm에서 2분간 원심분리하여 상층액(cytosol)을 얻고(4℃ 유지) cytosol에 0.26mM CdCl₂ 용액을 첨가한 후 수분간 방치하여 metallothionein을 포화시켰다. 여기에 냉장 보관하였던 RBC hemolysate를 첨가하고 95℃ boiling water bath에서 2분간 가열하고 냉각시켰다. 이후 10,000rpm에서 다시 2분간 원심분리하였다. 위의 열처리 원심분리를 1회 반복한다. 상층액을 취하여 카드뮴 농도를 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)를 이용하여 분석하였다. 분석시 조건으로 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. Metallothionein과 카드뮴의 몰비가 1:7임을 고려하여 조직내 metallothionein의 농도를 조직 g당 μg metallothionein으로 계산하였다¹²⁾.

4) 통계학적 분석

실험성적은 윈도우용 SPSS/PC+ 8.0을 이용하여 분석하였고 평균±표준편차로 요약하였다. 실험성적에 대한 그래프의 작성은 SigmaPlot 4.0을 이용하였다. 자료의 통계학적 유의성 검정은 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

결 과

1. 사료섭취량, 체중증가량

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 식이 섭취량과 체중증가량은 표 2와 같다. 하루당 식이 섭취량은 정상군이 22.70g 이었고 처리군에서는 처리군 III에서 19.18g으로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 14.37g으로 가장 낮았다.

4주 동안의 체중증가량은 정상군이 161.95g으로 가장 높았고 처리군에서는 처리군 III에서 126.39g으로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 109.78g으로 가장 낮았다.

Table 2. Food Intake and Body Weight Gain

Group	N	Food Intake(g/day)	Body Weight Gain(g/4Weeks)
Normal	10	22.70 ± 5.07	161.95 ± 15.36
Control	10	14.37 ± 3.71	109.78 ± 4.83
Treated I	10	17.95 ± 2.60 *	117.31 ± 9.81
Treated II	10	16.96 ± 2.61	126.29 ± 7.55 *
Treated III	10	19.18 ± 5.10 *	126.39 ± 27.86 *

Control: Saline only + Cd 1mg/m³. Treated I: Foliom Mori Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated II: Foliom Mori Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated III: Foliom Mori Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m³. * p<0.05.

2. 폐, 간장, 및 신장의 무게

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 폐, 간장, 그리고 신장의 무게는 표 3과 같다. 정상군의 폐 무게는 1.34g이었고 처리군에서는 처리군 II에서 1.27g으로 가장 높았고 처리군 I에서 1.15g으로 가장 낮았다. 정상군의 간장 무게는 9.71g이었고 처리군에서는 처리군 II에서 8.19g으로 가장 높았고 처리군 I에서 7.50g으로 가장 낮았다. 정상군의 신장의 무게는 2.08g이었고 처리군에서는 흡입暴露 대조군에서 1.81g으로 가장 높았고 처리군 II에서 1.71g으로 가장 낮았다.

Table 3. Weight of Lung, Liver, and Kidney Unit: gram

Group	N	Lung	Liver	Kidney
Normal	10	1.34±0.29	9.71±1.03	2.08±0.40
Control	10	1.20±0.30	8.11±1.97	1.81±0.18
Treated I	10	1.16±0.22	7.50±2.14	1.77±0.20
Treated II	10	1.27±0.12	8.19±1.05	1.71±0.17
Treated III	10	1.23±0.16	8.03±1.62	1.80±0.25

Control: Saline only + Cd 1mg/m³. Treated I: Foliu Mori Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated II: Foliu Mori Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated III: Foliu Mori Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m³.

3. 폐의 카드뮴 농도

정상군, 흡입暴露 대조군을 포함한 처리군의 폐 시료에서 카드뮴을 분석한 결과와 95% 신뢰구간은 표 4 및 그림 4와 같다. 정상군의 폐내에서 카드뮴의 함량은 0.08µg/g이었고 처리군에서는 흡입暴露 대조군에서 154.73µg/g으로 가장 높았고 처리군 III에서 86.39µg/g으로 가장 낮았다.

Table 4. Cadmium Concentrations in Lung Unit: µg/g

Group	N	Cadmium Concentration	95 Percent Confidence Interval
Normal	10	0.08±0.01	0.070 - 0.081
Control	10	154.73±23.46	137.95 - 171.52
Treated I	10	118.45±15.81*	107.14 - 129.76
Treated II	10	113.02±7.31*	107.80 - 118.25
Treated III	10	86.39±14.85*	75.77 - 97.02

Control: Saline only + Cd 1mg/m³. Treated I: Foliu Mori Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated II: Foliu Mori Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated III: Foliu Mori Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m³. *p<0.05.

4. 혈액, 간장, 및 신장에서 카드뮴 농도

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 혈액, 간장, 그리고 신장 시료에서 카드뮴을 분석한 결과는 표 5 그리고 그림 4과 같다. 정상군의 혈중 카드뮴 농도는 0.23µg/dl이었고 처리군에서는 흡입暴露 대조군에서 7.79µg/dl으로 가장 높았고 처리군 II에서 7.12µg/dl으로 가장 낮았다. 정상군의 간장중 카드뮴 농도는 0.01µg/g이었고 처리군에서는 흡입暴露 대조군에서 63.93µg/g으로 가장 높았고 처리군 I에서 40.02µg/g으로 가장 낮았다. 정상군의 신장중 카드뮴 농도는 0.03µg/g이었고 처리군에서는 흡입暴露 대조군에서 82.50µg/g으로 가장 높았고 처리군 III에서 69.18µg/g으로 가장 낮았다.

Table 5. Cadmium Concentrations in Blood, Liver, and Kidney

Group	N	Blood(µg/dl)	Liver(µg/g)	Kidney(µg/g)
Normal	10	0.23±0.05	0.01±0.00	0.03±0.00
Control	10	7.79±1.51	63.93±7.76	82.50±9.87
Treated I	10	7.23±0.85	40.02±5.90*	69.38±10.29
Treated II	10	7.12±1.04	40.32±4.49**	75.21±9.85**
Treated III	10	7.18±0.95	42.40±6.37***	69.18±7.27***

Control: Saline only + Cd 1mg/m³. Treated I: Foliu Mori Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated II: Foliu Mori Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated III: Foliu Mori Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m³. **,*p<0.05.

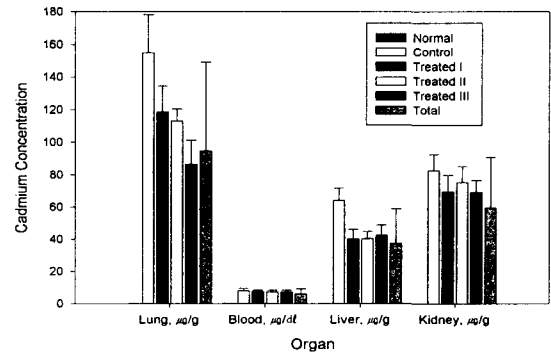


Fig. 4. Cadmium Concentration in Lung, Blood, Liver, and Kidney.

5. 소변과 대변 시료에서 주별 카드뮴 농도

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 소변 시료에서 카드뮴을 분석한 결과는 표 6 그리고 각 군에 따른 4주간의 소변중 카드뮴 배설 양상은 그림 5와 같다. 처리군에서 주별 소변중으로 배설되는 카드뮴의 농도를 비교해 보면 1주째는 처리군 III에서 2.23µg/ml로 가장 높았고 처리군 II에서 2.07µg/ml로 가장 낮았다. 2주째는 처리군 III에서 2.46µg/ml로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 2.02µg/ml로 가장 낮았으며 3주째는 처리군 III에서 2.98µg/ml로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 2.34µg/ml로 가장 낮았다. 4주간의 소변중 카드뮴 배설에서 흡입暴露 대조군에서는 4주간의 자료에서 감소-증가-감소의 경향을 보였고 처리군 I, II, 그리고 III에서는 4주간의 자료에서 소변중으로 배설되는 카드뮴의 농도가 증가하는 경향을 보였는데 桑葉 물추출물의 투여량이 높은 군에서 소변중으로 배설되는 카드뮴의 농도가 증가하는 경향이 뚜렷하였다.

Table 6. Cadmium Concentrations in Urines by Week Unit: µg/ml

Group	N	The Week			
		First	Second	Third	Fourth
Normal	10	0.02±0.01	0.035±0.01	0.04±0.00	0.04±0.00
Control	10	2.08±0.38	2.023±0.42	2.34±0.56	2.12±0.38
Treated I	10	2.20±0.49	2.299±0.45	2.55±0.64	2.96±0.66*
Treated II	10	2.07±0.53	2.191±0.59	2.89±0.46	3.06±0.73*
Treated III	10	2.23±0.43	2.461±0.42	2.98±0.65*	3.12±0.53*

Control: Saline only + Cd 1mg/m³. Treated I: Foliu Mori Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated II: Foliu Mori Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/m³. Treated III: Foliu Mori Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/m³. *p<0.05.

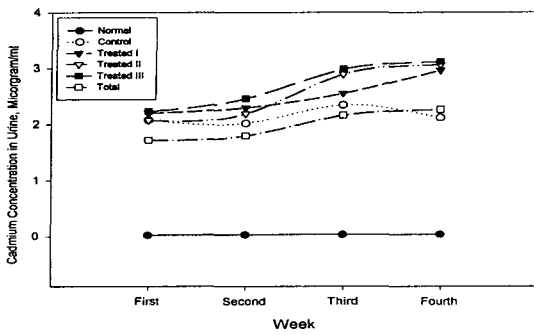


Fig. 5. Cadmium Excretion Patterns in Urine for 4 Weeks.

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 대변 시료에서 카드뮴을 분석한 결과는 표 7 그리고 각 군에 따른 4주간의 대변중 카드뮴 배설 양상은 그림 6과 같다. 처리군에서 주별 대변중으로 배설되는 카드뮴의 농도를 비교해 보면 1주째는 처리군 III에서 2.13 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 처리군 II에서 1.79 $\mu\text{g/g}$ 로 가장 낮았다. 2주째는 처리군 II에서 2.15 $\mu\text{g/g}$ 로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 1.78 $\mu\text{g/g}$ 로 가장 낮았으며 3주째는 처리군 III에서 2.24 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 흡입暴露 대조군과 처리군 I에서 공히 2.14 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮았다. 4주째는 처리군 III에서 2.67 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 2.02 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮았다. 4주간 대변중 카드뮴 배설에서 흡입暴露 대조군에서는 4주간의 자료에서 감소-증가-감소의 경향을 보였고 처리군 I, II에서는 4주간의 자료에서 대변중으로 배설되는 카드뮴의 농도가 약하게 증가하는 경향을 보였으나 처리군 III에서는 2주째 조금 감소하다가 다시 급격히 증가하는 경향이 있었다. 桑葉 물 추출물의 투여량 증가에 따라 대변중으로 배설되는 카드뮴의 농도가 증가하는 경향은 있었으나 소변에서의 카드뮴 배설과 약간 다른 양상을 나타내었다.

Table 7. Cadmium Concentrations in Feces by Week Unit: $\mu\text{g/g}$

Group	N	The Week			
		First	Second	Third	Fourth
Normal	10	0.40 \pm 0.27	0.24 \pm 0.17	0.37 \pm 0.27	0.37 \pm 0.32
Control	10	2.00 \pm 0.38	1.78 \pm 0.29	2.14 \pm 0.46	2.02 \pm 0.41
Treated I	10	1.70 \pm 0.50	2.00 \pm 0.54	2.14 \pm 0.60	2.25 \pm 1.00
Treated II	10	1.79 \pm 0.76	2.15 \pm 0.50	2.18 \pm 0.40	2.32 \pm 0.62
Treated III	10	2.13 \pm 0.47	1.92 \pm 0.52	2.24 \pm 0.38	2.67 \pm 0.52

Control: Saline only + Cd 1mg/ml. Treated I: Foliu Mori Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/ml. Treated II: Foliu Mori Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/ml. Treated III: Foliu Mori Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/ml.

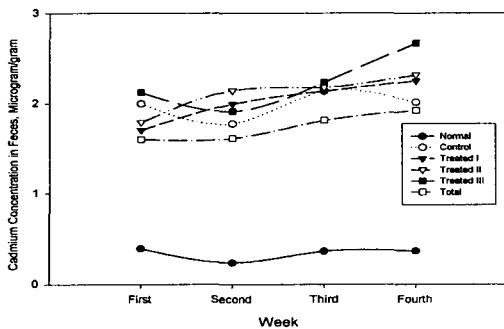


Fig. 6. Cadmium Excretion Patterns in Feces for 4 Weeks.

6. 폐, 간장, 및 신장에서 metallothionein의 농도

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 폐, 간장, 그리고 신장에서 metallothionein을 분석한 결과는 표 8 및 그림 7과 같다. 폐에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 6.11 $\mu\text{g/g}$ 이었고 처리군에서는 처리군 III에서 74.65 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 22.30 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮았다. 간장에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 16.19 $\mu\text{g/g}$ 이었고 처리군에서는 처리군 II에서 386.84 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 168.62 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮았다. 신장에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 13.56 $\mu\text{g/g}$ 이었고 처리군에서는 처리군 III에서 236.17 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 흡입暴露 대조군에서 140.37 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮았다.

Table 8. Metallothionein Concentrations in Lung, Liver, and Kidney Unit: $\mu\text{g/g}$

Group	N	Lung	Liver	Kidney
Normal	10	6.11 \pm 0.90	16.19 \pm 3.24	13.56 \pm 1.45
Control	10	22.30 \pm 4.53	168.62 \pm 10.16	140.37 \pm 30.90
Treated I	10	67.98 \pm 18.46*	345.01 \pm 59.83*	214.71 \pm 52.64*
Treated II	10	68.44 \pm 14.31*	386.84 \pm 77.11*	236.17 \pm 36.43*
Treated III	10	74.65 \pm 19.07*	347.79 \pm 68.22*	223.00 \pm 55.26*

Control: Saline only + Cd 1mg/ml. Treated I: Foliu Mori Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/ml. Treated II: Foliu Mori Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/ml. Treated III: Foliu Mori Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/ml. *p<0.05.

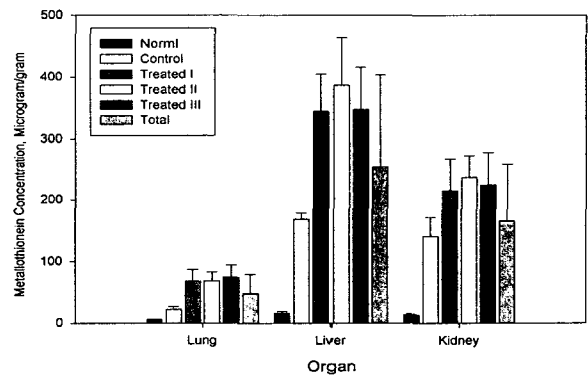


Fig. 7. Metallothionein Concentrations in Lung, Liver, and Kidney.

고찰

桑科(뽕나무과)에 속한 落葉喬木인 뽕나무(Morus alba Linne) 및 同屬近緣植物의 잎이 桑葉(Foliu Mori)인데, 苦·甘·寒·하고 無毒하여 肺·肝에 歸經한다. 이명으로는 鐵扇子, 桑樹葉, 多桑葉이 있다. 疏散風熱·平肝明目·清肺止咳·涼血止血 등의 효능이 있어 外感風熱의 頭痛咳嗽, 肝陽亢盛의 頭暈目眩, 肝經實熱, 燥熱傷肺證, 血熱吐血 등의 병증을 치료한다. 桑葉의 한의학적 임상적용은 散風熱 또는 肺經의 泄熱作用이 있기 때문에 外感風熱로 인한 頭痛, 咳嗽 등의 병증을 다스리는데, 보통 甘菊, 連翹, 薄荷, 前胡, 桔梗 등을 배합하여 응용한다. 疏散風熱·清肝明目的 효능이 있기 때문에 風熱에 의하거나 또

는 肝火上炎으로 인한 頭目昏眩, 目赤腫痛 등의 병증에 이용한다. 平肝明目的 작용이 있으므로 肝陽亢盛으로 인한 頭暈目眩, 頭痛頭瘡 등의 병증을 다스릴 때는 甘菊, 石決明, 白芍藥 등을 배합하여 응용하고 滋養肝腎작용이 있는 女貞子, 枸杞子, 黑芝麻 등을 배합하여 응용하기도 한다. 清肺止咳작용이 있으므로 燥熱傷肺로 인한 咳嗽, 咽乾 등의 병증을 다스리는데 이용하고 涼血止血 작용도 있어 血熱로 인한 吐血의 輕症에 대하여 기타의 涼血止血 약재를 배합하여 응용한다고 한다^{15,16}. 桑葉의 주성분은 ecdysterone, inokosterone, lupeol, β -sitosterol, rutin, moracetin, copper, zinc 등 이고¹⁶, 이중 구리와 아연은 in vivo에서 metallothionein을 유도하는 성질이 있다¹⁷⁻²⁰. 현재까지 상엽의 추출물에 대한 연구문헌은 저혈당증, 고혈압, 및 이노작용에 대한 것이 보고되고 있으며²¹ 카드뮴의 독성과 관련된 논문은 보고되지 않고 있다.

ACGIH²²의 카드뮴에 대한 허용기준치는 0.05mg/m³이다. 이것을 Niesink 등²³의 방법에 의해 안전계수 15를 적용한 몸무게, 暴露시간, 호흡량에 대한 브릿징을 하면 흰쥐에 대한 허용기준치는 0.382mg/m³으로 본 연구에서 처리군은 2.7배 높은 허용기준치에 暴露되었다. 안전계수 10을 적용한 暴露시간에 대한 브릿징을 하면 흰쥐에 대해서는 허용기준치가 0.667mg/m³으로 본 연구에서 처리군은 1.5배 높은 허용기준치에 暴露된 것으로 추정·계산될 수 있다. 이러한 브릿징 없으면 본 연구의 카드뮴 에어로졸에 흡입暴露된 흰쥐는 203배 높은 허용기준치에 흡입暴露된 것이다. Massaro²⁴의 방법으로 폐에 대한 흡입투여량(inhaled dose)과 침착된 양(deposited dose)은 강성호 등⁷의 연구에서는 각각 1.129mg과 0.023mg이었다. 본 연구에서 흡입투여량(inhaled dose)은 1.169mg이었고 폐에 침착된 양(deposited dose)은 0.102mg이었다. 카드뮴 에어로졸의 농도만을 고려한 흡입투여량에는 수치가 차이가 없었지만 카드뮴 에어로졸 입자의 크기를 고려하는 폐에 침착된 양에 약 4.4배 차이가 있는 것은 질량중위수 직경이 강성호 등⁷의 연구에서는 4.93 μ m이었고 본 연구에서는 1.399 μ m로 작아서 폐에 침착되는 비율이 높기 때문이다. 조직과 혈액내의 카드뮴 농도를 강성호 등⁷의 연구와 비교해 보면 흡입暴露 대조군에서는 폐에서 2.8배, 간장에서 2.3배, 신장에서 32.7배, 그리고 혈액에서 3배 본 연구결과가 더 높았고 처리군에서는 폐에서 2배, 간장에서 1.7배, 신장에서 30배, 그리고 혈액에서 3.4배 본 연구결과가 높았다. 조직내의 metallothionein 농도를 강성호 등⁷의 연구와 비교해 보면 흡입暴露 대조군에서는 폐에서 2.5배, 간장에서 1.7배, 그리고 신장에서 3.4배 본 연구결과가 더 높았고 처리군에서는 폐에서 2.7배, 간장에서 2.8배, 그리고 신장에서 5.5배 본 연구결과가 높았다. 강성호 등⁷의 연구와 본 연구결과를 흡입暴露 대조군과 처리군으로 나누어 비교할 때 흡입暴露 대조군에 비해 桑葉 물 추출물을 투여한 처리군의 폐, 간장, 및 신장의 metallothionein은 모두 증가하였고 간장과 신장에서의 증가 수치가 폐의 metallothionein 증가 수치보다 높았다. 폐, 간장, 신장, 및 혈액에서 카드뮴 농도는 흡입暴露 대조군에 비해 桑葉 물 추출물을 투여한 처리군의 폐, 간장, 및 신장의 카드뮴 농도가 낮았으나 처리군의 혈액에서 수치가 흡입暴露 대조군에 비해 약간

높았는데 이는 강성호 등⁷의 연구에 비해 상대적으로 높은 폐내의 카드뮴 침착으로 인해 혈액으로 이행된 부분이 높기 때문인 것으로 생각된다.

카드뮴에 대한 흡입暴露와 독성에 대한 연구는 Yoshikawa 등¹⁴에 의해서 일부 수행되었기 때문에 비교할 수 있는 자료는 많지 않다. 그의 연구에서는 흰쥐를 1일 6시간, 12주(3개월) 동안 공기중 카드뮴 흡 농도 0.1mg/m³과 1mg/m³에 흡입暴露되게 하였다. 1.0mg/m³에 흡입暴露된 흰쥐 10마리중 3마리는 연구시작 시점에서 46-49일째 되는 날 죽었고 0.1mg/m³에 흡입暴露된 흰쥐에서는 사망이 없었고 대조군과 유사한 체중의 증가를 보였다. 그러나, 2주 동안의 흡입暴露 후 0.1mg/m³ 그리고 1.0mg/m³에 흡입暴露된 흰쥐의 폐 무게에서 증가가 있었다. 폐의 병리학적 소견의 관점에서, 3개월 흡입暴露 후 1.0mg/m³ 흰쥐에서 폐 섬유화 및 1단계 기종이 관찰되었고 0.1mg/m³에 흡입暴露된 흰쥐에서는 더 완만하게 나타났으며 양자의 흰쥐에서 대조군과 비교해 체중의 증가의 변화는 없었다고 한다. 본 연구에서는 카드뮴 농도 1.015mg/m³ 그리고 질량중위수입경 1.399 μ m에서 하루 6시간 4주간 흡입暴露 동안에 죽은 흰쥐는 없었고 폐의 섬유화, 기종도 관찰되지 않았다. 카드뮴 공급식 식이섭취량을 감소시키고 체중증가에 감소를 가져온다는 여러 보고가 있었으나^{25,26} 본 연구에서 식이섭취량은 정상군에 비해 유의하게 감소하였으나 흡입暴露 대조군과 처리군 II, III의 비교에서는 유의한 증가가 있었다. 이와 더불어 체중증가량이 정상군에 비해 유의하게 감소하였으나 흡입暴露 대조군과 처리군 II, III의 비교에서는 유의한 증가가 있었으며, Yoshikawa 등¹⁴의 연구에서는 체중증가량에 차이가 없었다는 것과 다른 결과를 얻었다. 정상군에 비해 처리군에서 체중증가량이 감소된 것은 감소된 식이섭취량에 기인한 것으로 생각되며 桑葉 물 추출물의 투여는 식이섭취량과 체중증가량에 영향을 주는 것으로 생각된다. Yoshikawa 등¹⁴의 연구와 본 연구는 결과가 있어 많은 차이가 있었다. 첫 번째는 폐의 병리학적 소견에 대한 것인데 흡은 연소, 승화, 응결과 같은 기전에서 생성되는 미세한 입자상 물질이며 입자의 크기 범위는 0.001-1.0 μ m로 Yoshikawa 등¹⁴의 연구에서는 입자의 크기를 규정하지 않았지만 본 연구에서는 입자의 크기 1.399 μ m는 Yoshikawa 등¹⁴의 연구와 비교해 볼 때 약 1399-1.399배 컸다. 입자의 크기가 크다는 것은 폐에 침착될 수 있는 양이 더 작다는 것을 의미하며 폐를 통한 체내로의 흡수가 낮다는 것을 의미한다. Snyder²⁷에 의하면 흰쥐에서 1 μ m와 5 μ m의 입자크기를 비교할 때 폐에 침착되는 비율은 1 μ m가 5배 높다고 한다. Yoshikawa 등¹⁴의 연구에서 폐의 섬유화와 기종이 관찰된 것은 입자의 크기가 작은 흡을 이용하였고 흡입暴露시 폐에 많은 침착이 있었고 체내로의 흡수가 많았다는데 기인한다고 할 수 있다. 따라서 카드뮴에 흡입暴露가 되더라도 입자의 크기에 따라서 나타날 수 있는 생리학적, 병리학적 반응은 다를 수 있다는 것을 알 수 있고 카드뮴 에어로졸의 흡입暴露 실험에서 입자의 크기 즉 질량중위수직경을 규정한다는 것은 아주 중요함을 알 수 있다. 두 번째는 혈액학적 소견에서의 차이인데 이는 Yoshikawa 등¹⁴에서는 용해성이 낮은 금속 카드뮴 흡에 흰쥐를 흡입暴露시켰고 본 연구에서는 용해성이 높

은 염화 카드뮴을 흡입暴露시킨데 그 원인이 있는 것으로 생각되며 카드뮴 에어로졸의 입자크기가 동일하다면 염화 카드뮴의 높은 용해성으로 인해 폐에 침착되고 난후 체내에 더 많은 양이 흡수되었을 것으로 추정된다. Rusch 등⁹⁾ 그리고 Tsuchiya²⁰⁾은 입자의 크기가외에도 물질의 용해성이 독성을 결정하는 중요한 요인이라고 한다. Tsuchiya²⁰⁾는 용해성이 낮은 CdS는 CdCl₂, CdSO₄보다 간장과 신장에 축적되는 양이 낮다고 하였다. 실험동물의 조직에서 카드뮴 축적량의 50-80%가 간장과 신장에 분포되기 때문에 카드뮴 중독에 가장 많은 영향을 받는 장기는 간장과 신장인데 이들의 무게가 카드뮴 공급에 의해 감소한다는 보고가 있다²⁹⁾. 본 연구에서는 간장과 신장의 무게는 정상군에 비해 처리군 모두에서 유의하게 감소하였고 이는 류정미와 김미경²⁶⁾의 연구결과와도 유사하였다. 그러나 폐의 무게는 정상군에 비해 수치적으로는 감소하였으나 유의성은 없었다. 桑葉 물 추출물의 투여가 폐의 무게에는 영향을 주었으나 간장과 신장의 무게에는 영향을 주지 못한 것으로 생각된다. 각종 장기와 혈액의 카드뮴의 함량을 보면 4주간의 카드뮴 에어로졸의 흡입暴露로 인하여 정상군에 비해 모두 유의하게 카드뮴 함량이 증가하였고 폐(105.96 μ g/g), 신장(71.26 μ g/g), 간장(40.91 μ g/g), 및 혈액(7.18 μ g/dl)의 순으로 카드뮴 함량이 높았다. 산화 카드뮴 흡에 30분 暴露 후 7일 후의 조직중 카드뮴 농도를 분석한 Yoshikawa 등¹⁴⁾의 연구에서도 카드뮴의 유입경로인 폐의 농도(2.82 μ g/g)가 높음을 강조하였고 다음이 신장(0.69 μ g/g), 간장(0.39 μ g/g)의 순이었는데 이는 본 연구결과와 그 경향이 유사하였다. 카드뮴에 흡입暴露시 폐내의 카드뮴 함량이 높은 것은 체내로의 유입경로라는 것 이외에도 흡입시 침착된 카드뮴 에어로졸이 혈류를 통해 분포되지 않은 부분이 많은데 그 원인이 있을 것으로 생각된다. 혈액내의 카드뮴 함량이 상대적으로 낮은 것 폐에서 혈류로의 이동이 느리고 일단 혈류로 들어온 카드뮴이 간장과 신장으로 분포되고 최종적으로는 대부분은 소변을 통해서 그리고 일부는 대변을 통해서 배설되었기 때문인 것으로 생각된다. 간장은 카드뮴의 노출 경로에 관계없이 체내에서 카드뮴 축적이 가장 높은 기관으로 카드뮴에 의해 가장 독성을 나타내기 쉽다고 하였으나³⁰⁾ 본 연구에서는 간장보다는 신장에서의 카드뮴 농도가 더 높았는데 이는 Yoshikawa 등¹⁴⁾의 연구와 유사하였다. 본 연구에서는 桑葉 물 추출물의 투여가 카드뮴 에어로졸에 흡입暴露된 흰쥐의 간장과 신장에서 metallothionein의 생성 및 제거기전에 많은 영향을 준 것으로 생각된다. 카드뮴 흡입暴露와 시업 추출물의 영향을 연구한 강성호 등⁷⁾의 연구에서는 신장의 카드뮴 농도가 간장에 비해 높지 않았으며 이는 카드뮴의 흡입暴露로 인해 체내로 흡수된 카드뮴의 양이 신장에서 수용할 수 있는 양을 초과했기 때문에 간장은 카드뮴을 저장하는 역할을 한 것으로 생각된다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 이러한 현상이 나타나지 않았는데 이는 혈류를 통해 신장으로 공급되는 카드뮴의 양이 신장이 수용할 수 있는 양을 초과하여 신장기능에 손상을 준 것 때문으로 생각된다. 폐에서 카드뮴 함량은 흡입暴露 대조군에서 154.73 μ g/g, 실험군에서 105.96 μ g/g이었다. 단일 3가지 카드뮴 색소에 대해 2 시간 동안 흡입暴露시킨 Rusch 등⁹⁾에 의한 연구에서 카드뮴 열

로우, 카드뮴 레드, 탄산 카드뮴 각각에 대해 폐의 카드뮴 함량은 115 μ g/g, 156 μ g/g, 144 μ g/g이었고 22mg/m³ 산화 카드뮴 흡(0.2 μ m)에 20분 동안 흡입暴露시킨 Yoshikawa 등¹⁴⁾의 연구에서는 폐에서 카드뮴 함량은 10.03 μ g/g이었다. 본 연구와 Rusch 등⁹⁾의 연구는 분진의 형태이고 Yoshikawa 등¹⁴⁾의 연구는 입자의 크기가 작은 흡의 형태이었는데 입자의 크기가 작을 수록 폐에 침착되는 카드뮴의 양이 많음을 알 수 있고 본 연구에서와 같이 염화 카드뮴과 같은 수용성 카드뮴일 수록 폐에서 제거되는 정도가 높음을 알 수 있다.

본 연구에서는 카드뮴 에어로졸 흡입暴露로 인한 독성저항의 직접적인 지표인 metallothionein의 농도는 폐, 간장, 및 신장에서 모두 흡입暴露 대조군과 처리군 I, II, III과의 비교시 유의하게 증가하였는데 이는 桑葉 물 추출물의 투여에 의한 영향으로 생각된다. 폐의 metallothionein 함량은 간장과 신장의 metallothionein 함량에 비해 상대적으로 낮은 양이었으나 흡입暴露 대조군 및 처리군 I, II, III과 비교시 유의한 차이가 있었는데 이는 桑葉 물 추출물의 투여가 폐내에 침착된 카드뮴에 의한 metallothionein의 생성 및 침착되어 있는 카드뮴의 제거기전에 영향을 준 것으로 생각된다. 특히 폐에서는 간장과 신장에서의 metallothionein 증가보다 더 뚜렷한 용량-의존성 경향을 나타내었다. 이러한 것을 고려해 볼 때 桑葉 물 추출물의 투여는 카드뮴에 대한 metallothionein 증재에 의한 cytosol에서 카드뮴의 격리와 제거하는 능력에 영향을 주는 것으로 생각되고^{31,32)} 그것에 의해서 카드뮴에 대한 중독으로부터 독성을 저하시키고 카드뮴 에어로졸이 침착되어 체내로 흡수되는 폐, 및 표적장기인 간장과 신장에서 카드뮴의 제거에 기여하는 것으로 생각된다. 카드뮴 유발 독성에 대한 방어기전에서 metallothionein의 이러한 기능 때문에 조직에서 높은 metallothionein 농도는 동물에게 명백하게 생리학적으로 이점이 있을 수 있다³³⁾. 실험동물의 폐에서 metallothionein의 유도에 대한 연구는 많지 않아 객관적인 비교는 할 수 없으나 Itoh 등³⁴⁾은 colchicine 투여에 의해 폐에서 정상군에 비해 3배 높은 농도의 metallothionein을 보고하였으나 본 연구에서는 桑葉 물 추출물 투여군의 폐에서 유도된 metallothionein의 농도가 정상군에 비해 약 11배, 흡입暴露 대조군에 비해 약 3배 높았는데 이는 桑葉 물 추출물의 투여가 폐에서 metallothionein의 유도에 영향을 주는 것으로 생각된다. 桑葉 물 추출물 투여군의 간장에서 metallothionein은 정상군에 비해 약 22배, 흡입暴露 대조군에 비해 약 2배 높았고 桑葉 물 추출물의 투여가 간장에서 metallothionein의 유도에 영향을 준 것으로 생각된다. 桑葉 물 추출물 투여군의 신장에서 metallothionein은 정상군에 비해 약 16배, 흡입暴露 대조군에 비해 1.6배 높았고 桑葉 물 추출물의 투여가 신장에서 metallothionein의 유도에 영향을 준 것으로 생각된다. Sendelbach와 Klaassen³⁵⁾은 카드뮴의 형태에 따라 metallothionein의 생성량에 차이가 있음을 보고하였고 이러한 차이는 간장에 존재하고 있는 CdCl₂에 의해 생성되는 metallothionein의 양에 비하여 신장에 존재하는 metallothionein의 양이 현저하게 작고 신장의 용해소체에서 해리된 카드뮴 이온이 매우 작은 양의 metallothionein을 생성하기 때문에 만성

카드뮴 중독의 경우는 신장이 표적장기이고 급성 카드뮴 중독의 경우는 간장이 표적장기라고 하였다. 본 연구에서도 흡입暴露 대조군, 처리군 I, II, 및 III에서 모두 신장에서의 metallothionein 농도보다 간장에서의 metallothionein의 농도가 높았다. 소변을 통한 카드뮴의 배설은 시간이 지남에 따라 처리군 I, II, 및 III에서는 증가하는 경향이 뚜렷하였는데 흡입暴露 대조군에서는 증가하는 경향이 약했고 4주째는 감소하는 경향을 보였다. 대변을 통한 카드뮴의 배설은 시간이 지남에 따라 처리군 I, II, 및 III에서는 서서히 증가하는 경향이 있었고 흡입暴露 대조군에서 이러한 경향을 볼 수 없었다. 소변을 통한 카드뮴의 배설은 강성호 등⁷⁾의 연구와 유사하였으나 대변을 통한 배설은 다소 다른 양상을 나타내었다. 카드뮴 흡입暴露의 초기에, 공기중 카드뮴 입자의 섭취와 이로 인한 장으로의 흡수가 많지 않기 때문에, 대변을 통한 배설은 제거의 주요한 경로이나 소량의 답즙을 통한 제거 (biliary excretion)은 구강 흡수 후에 간장에서 전신순환으로 들어가기 전에 이루어진다고 한다. 일단 전신순환을 하게되면, 대변과 소변을 통한 배설은 대략 동일하게 된다고 하는데^{18, 36,37)} 본 연구에서도 약간 이러한 경향성을 볼 수는 있었으나 뚜렷하지는 않았는데 이는 본 연구가 카드뮴 에어로졸의 흡입을 통한 暴露이기 때문에 대변을 통한 카드뮴의 전체 제거량 보다는 소변을 통한 카드뮴의 제거가 지배적이었기 때문인 것으로 생각된다. 현재까지 카드뮴 중독은 효과적으로 치료하기가 어렵고. 명확하게 도움이 된다고 증명되지 않았지만, CaNa₂EDTA의 킬레이트 요법이 추천되어왔으며 Dimercaprol은 신장 독성을 증가시키기 때문에 금기라고 한다. 실험동물에서 CaNa₂EDTA와 CaNa₂DTPA 같은 다탄산킬레이트제(polycarboxylic acid chelator)가 카드뮴에 暴露된 후 즉시 투여되었을 때 효과적일 수 있다는 보고가 있으나³⁾ 불행하게도 킬레이트제가 도달하지 못한 부분은 빨리 분포되기 때문에 킬레이트 요법은 시간이 경과함에 따라 급속히 효과가 떨어진다고 한다³⁸⁾. 그렇기 때문에 킬레이트제의 투여는 급속히 노출된 후 가능한 빨리 실행되어야 한다⁹⁾. 세계보건기구에서는 직업적 카드뮴 중독에 대해 특별한 의학적 치료방안이 없다고 하여 의학적, 공학적 예방조치의 중요성만을 강조하고 있다¹⁾.

본 연구에서 桑葉 물 추출물의 투여결과 카드뮴 에어로졸 흡입暴露에서 흰쥐의 간장, 신장, 및 폐에 대한 독성 영향을 감소시키는 것으로 나타났으며 이에 대한 정확한 기전에 대해서는 추가의 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

결 론

카드뮴의 흡입독성과 桑葉 추출물의 영향을 연구하고자 흰쥐 처리군은 1일 6시간, 1주일에 5회, 및 4주간 공기중 카드뮴 에어로졸에 흡입暴露되었으며 카드뮴 에어로졸의 공기중 농도는 1.02mg/m³, 질량중위수입경은 1.40 μ m으로써 각각의 처리군에 대한 桑葉 추출물의 복용투여 결과는 다음과 같다.

체중증가량과 식이섭취량은 126.40g/4 weeks와 19.18g/day로 처리군 III에서 가장 높았으며 폐의 무게는 처리군 II에서 1.27g, 간장의 무게는 처리군 II에서 8.19g, 그리고 신장의 무게는

흡입暴露 대조군에서 1.81g으로 가장 높았다. 폐에서 카드뮴 함량은 처리군 III에서 86.39 μ g/g으로 가장 낮았다. 혈중 카드뮴 농도는 처리군 III에서 7.12 μ g/dl로 가장 낮았다. 간장에서 카드뮴 농도는 처리군 I에서 40.02 μ g/g으로 가장 낮았고 신장에서의 카드뮴 농도는 처리군 III에서 69.18 μ g/g으로 가장 낮았다. 주별 소변중 카드뮴 농도는 4주째 처리군 III에서 3.12 μ g/ml로 가장 높았고 주별 대변중 카드뮴 농도는 처리군 III에서 2.67 μ g/g으로 가장 높았다. 폐의 metallothionein 농도는 처리군 III에서 74.65 μ g/g로 가장 높았다. 간장의 metallothionein 농도는 처리군 II에서 386.84 μ g/g으로 가장 높았다. 신장에서 metallothionein 농도는 처리군 II에서 236.17 μ g/g으로 가장 높았다.

감사의 글

이 논문은 두뇌한국(Brain Korea; BK) 21 사업에 의해 수행되었으며 이에 감사한다.

참고문헌

1. WHO: Cadmium, Environmental Health Criteria 134, Int. Prog. Chemical Safety. World Health Organization, Geneva, 1992.
2. Friberg, L., Kjellstrom, T., and Nordberg, G.: Cadmium. Handbook on the Toxicology of Metals, L. Friberg, G.F. Nordberg, and V. Vouk, Eds. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, New York. pp. 130-184., 1986.
3. Hadley, J.G., Sanders, C.L., and Conklin, A.W.: Rapid Solubilization and Translocation of Cadmium-109 Oxide Following Pulmonary Deposition. Toxicol. Appl. Pharmacol. 54:156-160, 1980.
4. Roels, H. A., Lauwerys, R. R., Bucket, J. P., Bernard, A., Chettle, D. C., Harvey, T. C. and Al-Haddad, I. K.: In vivo Measurement of Liver and Kidney Cadmium in Worker Exposed to This Metal: Its Significance with Respect to Cadmium in Blood and Urine. Environ. Res. 26:217-240, 1981.
5. Cantilena, L.R., Klaassen, C.D.: Decreased effectiveness of chelation therapy for Cd poisoning with time. Toxicol. Appl. Pharmacol. 63:173-180, 1982.
6. Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W., and Murad, F.: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 7th Ed. Macmillan Publishing Company, New York. pp.1664-1665, 1985.
7. 강성호, 천병렬, 김상덕, 송용선, 이기남, 정재열: 시엽 추출물이 카드뮴에 흡입폭로된 랫드의 독성에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 16(1):78-88, 2002.
8. 이기남, 정재열, 송용선, 이정호, 유일수, 김신기, 백승화: 어성초 분획이 흰쥐 장기내 카드뮴 축적과 Metallothionein 생

- 성에 미치는 영향(VI). 대한한의학회지. 22(1):22-32, 2001.
9. Rusch, G.M., O'Grodnick, J.S., and Rinehart, W.zE.: Acute Inhalation Study in the Rat of Comparative Uptake, Distribution and Excretion for Different Cadmium Containing Materials Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 47(12): 754-763, 1986.
 10. Hinds, W.C.: Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles. John Wiley and Sons, New York. pp.392-394, 1982.
 11. Eller, P.M.: Method 8005 NIOSH Manual of Analytical Methods(NMAM), Fourth Edition. NIOSH. pp.1-6, 1987.
 12. Eaton, D.L., Cherian, M.G.: Determination of metallothionein in tissue by cadmium-hemoglobin assay. Methods Emzymol. 205:83-8, 1991.
 13. Tetsuo, Y., Stanley D. Kosanke, and Lora E. Rikans: Attenuation of Cadmium-Induced Liver Injury in Senescent Male Fischer 344 Rats: Role of Metallothionein and Glutathione. Toxicology and Applied Pharmacology. 161:225-230, 1999.
 14. Yoshikawa, H., Kawai, K., Suzuki, Y., Nozaki, K., and Ohsawa, M.: Studies on cadmium effects in living organisms-impairment due to inhalation. Toxicol. Appl. Pharmacol. 34:517, 1975.
 15. 신민교. 임상 본초학. 영림사. pp.245-246, 1997.
 16. Bensky, D., Gamble, A.: Chinese Herbal Medicine Materia Medica.. Eastland Press. p.43, 1993.
 17. Lauwerys, R.R., Hoet, P.: Industrial Chemical Exposure: Guidelienes for Biological Monitoring, 2nd Edition. Lewis Publishers. Ann Arbor. pp.32-36, 1993.
 18. Nath, R., Prasad, R., Palinal, V.K., and Chopra, R.K.: Molecular basis of cadmium toxicity. Prog. Food Nutr. Sci. 8:109-163, 1984.
 19. Bremner I.: Nutritional and physiologic significance of metallothionein. Meth. Enzymol. 205:25-35, 1991.
 20. Ebadi, M.: Metallothioneins and other zinc-binding proteins in brain. Meth. Enzymol. 205:363-387, 1991.
 21. Kelkar, S.M., Bapat, V.A., Ganapati, T.R., Kaklij, G.S., Rao, P.S.: Determination of hypoglycemic activity in Morus indica Mulberry shoot cultures. Curr. Sci. 71:71-72, 1996.
 22. American Conference of Governmental Industrial Hygienists : Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 6th ed. ACGIH, Cincinnati, OH. pp. BEI 47-55, 1991.
 23. Niesink, R.J.M., Vries, J.D., Hollinger M.A.: Toxicology Principles and Applications. CRC Press. New York. p.p.575-604, 1996.
 24. Massaro, E.J.: Handbook of Human Toxicology. CRC Press. New York. pp.528-540, 1997.
 25. 권오관: 식이 단백질과 calcium 수준이 흰쥐의 cadmium 중독 및 해독에 미치는 영향. 한국영양학회지. 25(5):360-378, 1992.
 26. 류정미, 김미경: 식이내 Cysteine 수준이 흰쥐의 카드뮴과 납 중독에 미치는 영향. 한국영양학회지. 29(6):597-607, 1996.
 27. Snyder, W.S.: International Commission on Radiological Protection, No. 23: Report of the Task Group on Reference Man, Pergammon Press, Oxford. 1975.
 28. Tsuchiya, K.: Cadmium Studies in Japan: A Review. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. New York. pp.45-128, 1978.
 29. Faeder, E.J, Chaney, S.W., King, L.C., Hinners, T.A., Bruce, R., Fowler, B.A.: Biochemical and ultrastructural change in livers of cadmium-treated rats. Toxicol Appl Pharmacol. 39:473-487, 1977.
 30. Frazier, J.M., Puglese, J.: Dose dependence of cadmium kinetics in the rat liver following intravenous injection. Toxicol Appl Pharmacol. 43:461-474, 1978.
 31. Choudhuri, S., McKim, Jr. J. M. and Klaassen, C.D.: Differential expression of the metallothionein gene in liver and brain of mice and rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 119:1-10, 1993.
 32. Choudhuri, S., W. L. Liu, N. E. J. Berman and C. D. Klaassen: Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stage of development. Toxicol. Lett. 84:127-33, 1996.
 33. Liu, J., Kershaw, W.C., and Klaassen, C.D.: The protective effect of metallothionein on the toxicity of various metals in rat primary hepatocyte culture. Toxicol. Appl. Pharmacol. 107:27-34, 1991.
 34. Itoh, N., Kasmatsu, M., Onosaka, S, Muto, N., and Tanaka, K. Colchicine-induced elevation of tissue metallothionein contents is mediated by inflammation-independent serum factor. Toxicology. 116:201-209, 1997.
 35. Sendelbach, L.E. and Klaassen, C.D.: Kidney synthesizes less metallothionein than liver in response to cadmium chloride and cadmium metallothionein. Toxicol Appl Pharmacol. 92-95, 1988.
 36. Taylor, J., Ennever, F.K.: Toxicological Profile for Cadmium. Atlanta, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, United States Public Health Service. 1993.
 37. IARC: Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human: Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposures in the Glass Manufacturing Industry, Volume 58. Geneva, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. pp.119-237, 1993.
 38. Waalkes, M.P., Watkins, J.B., and Klaassen, C.D.: Minimal role of metallothionein in decreased chelator efficiency for cadmium. Toxicol. Appl. Pharmacol. 68:392-398, 1983.