

牛膝 추출물이 카드뮴 흡입폭로된 흰쥐의 독성해독에 미치는 영향

김흥기¹ · 정재열* · 박승정¹ · 강성호 · 송용선 · 이기남

원광대학교 한의학전문대학원 제3의학과, 1: 원광대학교 대학원 한의학과

Effects of Extract of Radix Achyranthis Bidentatae on Cadmium Inhalation Toxicity in Rats

Hong Ki Kim¹, Jaeyeal Jeung*, Seung Jong Park¹, Sung Ho Kang, Young Sun Song, Ki-Nam Lee

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

To know the effects between Cd inhalation toxicity and extract of Radix Achyranthis Bidentatae, 4 rat groups were exposed to Cd aerosol in air using whole-body inhalation exposure for 6 hours/day, 5 days/week, and 4 weeks. Cd concentration in air was 1.03mg/m³ and mass median diameter(MMD) was 1.69μm. 3 different dose intraperitoneal injections of extract of Radix Achyranthis Bidentatae to 3 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 from inhalation exposure group I and the highest lung and liver weight were also from inhalation exposure group I. The highest kidney weight was from inhalation exposure group III. The lowest Cd content in lung was 33.49μg/g from inhalation exposure group I. The lowest Cd concentration in blood was 9.36μg/dl from inhalation exposure control. Cd concentrations of 40.02μg/g in liver and 69.18μg/g in kidney were the lowest from inhalation exposure group I and III, respectively. The lowest Cd concentration in liver was 21.08μg/g from inhalation exposure group III and The lowest Cd concentration in kidney was 15.78μg/g from inhalation exposure group II. For weekly Cd concentration in urine, the value of the fourth week from inhalation exposure group III was the highest. For weekly Cd concentration in feces, the value of the first week from inhalation exposure group III was the highest. The highest metallothionein concentration in lung was 53.42 μg/g from inhalation exposure group III and the highest metallothionein concentration in liver was 188.18μg/g from inhalation exposure group III. The highest metallothionein concentration in kidney was 143.92μg/g from inhalation exposure group III. The highest Hct, Hb, and WBC values were from inhalation exposure group II and the highest RBC value was from inhalation exposure group III.

Key words : Radix Achyranthis Bidentatae(牛膝), Cadmium Inhalation Toxicity, Cd Aerosol, Mass Median Diameter(MMD), Inhalation Exposure, Metallothionein

서 론

카드뮴은 자연에서 아연 및 납과 연관되어 존재한다. 그래서 이러한 금속의 추출과 처리는 대개 카드뮴의 환경오염을 발생시킨다. 이 원소는 1817년에 발견되었으나 유용한 야금학적 특성이 발견된 약 50년 전까지는 드물게 사용되었다. 높은 부식 저항성,

유용한 전기화학적 특성, 그리고 기타의 쓸모 있는 화학적 특성으로 인해 전기도금, 아연도금, 플라스틱, 페인트 색소(황색 카드뮴), 그리고 니켈-카드뮴 전지에 폭 넓게 이용되고 있고 산업적 이용은 증가할 것이다. 카드뮴이 5%만이 재생되기 때문에, 환경 오염은 중요한 고려사항이다¹⁾.

일반적으로 급성중독은 카드뮴 분진과 흡(일반적으로 산화카드뮴)의 흡입 그리고 카드뮴 염의 섭취에서 비롯된다. 초기의 독성영향은 국소적인 자극 때문이다. 경구섭취의 경우에 구역질, 구토, 타액분비과다, 설사 및 복부경련인데 구토와 설사는 대개 혈흔이 있다. 단기간 흡입했을 때 카드뮴은 독성이 강한데 수시

* 교신저자 : 정재열, 익산시 신용동 344-3, 원광대학교 한의학전문대학원

· E-mail : jaeyeal@wonkwaang.ac.kr, Tel : 063-850-6941

· 접수 : 2004/01/27 · 수정 : 2004/02/26 · 채택 : 2004/03/30

간내에 나타나는 증상은 강한 호흡기 자극, 초기 폐렴, 흉통, 구역질, 현기증 및 설사이다. 독성은 기관지 및 혈관주위의 섬유화를 동반하는 치명적인 폐종양 또는 폐기종으로 진행된다¹⁻³⁾. 주요한 관심사중 하나는 산업장에서 건강장해 없이 暴露될 수 있는 직업적 暴露수준의 선택이다⁴⁾. 오늘날까지, 직업적 暴露수준은 카드뮴 수준에만 기초를 두고 설정되었고 여러 가지 카드뮴 화합물의 입자크기와 용해도와 같은, 본질적인 특성의 결과로 명확하게 다른 독성을 제시할 수 있다는 가능성을 고려하지 않고 있다. 카드뮴 흡입 暴露 후 체내에 빠르게 흡수된다고 할지라도, 暴露 후 흡수 백분율에 대해 이용할 수 있는 연구정보는 없다⁵⁾. 카드뮴 暴露후에, 호흡기계와 소화기 양자를 통해 흡수되고 초기에 간에서 주로 발견되고 그 이후에는 신장으로 운반된다. 이 운반은 metallothionein을 이용하는 것으로 증명되었다. 신장에서 반감기는 10-30년이며⁶⁾ 소량만 소변으로 배설된다. 일반적으로 소변검출은 만성 暴露를 반영하지만, 흡수된 카드뮴이 간장에 축적되기 때문에 높은 수준에 일시적으로 暴露되면 소변중 카드뮴 농도의 순간적인 증가를 보인다⁶⁾. 산업장에서 카드뮴과 그 화합물을 다루는 작업자의 흡입에 의한 카드뮴 중독은 효과적으로 치료하기가 어려워 킬레이트 요법이 추천되고 있으나 일부의 킬레이트제는 신장독성으로 인해 사용이 엄격히 제한되며 덜한 카드뮴에 暴露된 후 즉시 투여되었을 때 효과가 있고 만성적으로 暴露되었을 때는 그 효과가 급속히 감소된다⁷⁾. WHO는 직업적 카드뮴 중독에 대해 특별한 의학적 치료방안이 없다고 하며 공학적, 의학적 예방의 중요성을 강조하고 있다⁹⁾.

본 연구와 관련된 최근까지의 연구는 매우 적는데 柿葉¹⁰⁾, 桑葉¹¹⁾과 魚腥草¹²⁾ 추출물을 이용한 연구가 있을 뿐이다. 카드뮴의 暴露와 이에 따른 독성완화에 한약재 추출물의 투여 연구의 중요성을 언급하였다.

이에 본 연구는 한의학에서 苦·酸, 平 無毒하고 肝·腎에 二經 작용하고 活血祛瘀·通利關節·引血引化下行·補肝腎·強腰膝 등의 효능이 있는 牛膝(Radix Achyranthis Bidentatae)을 분헌고찰과 예비실험 과정을 거쳐 선정하였다¹³⁾. 카드뮴 에어로졸에 대한 暴露 조건은 정 등¹⁴⁾의 연구조건을 이용하였고 카드뮴 에어로졸에 暴露된 흰쥐의 혈액을 포함한 폐, 간장, 신장의 카드뮴 농도, 폐, 간장, 신장의 metallothionein 농도, 배설의 지표인 소변과 대변 카드뮴 농도와 흡입독성학의 기본적 평가요소인 식이섭취량, 체중증가량, 장기의 무게, 및 혈구용적치, 헤모글로빈, 적혈구, 백혈구와 같은 혈액학적 변수에 대해서도 추가로 조사하였고 이러한 과정을 통해 牛膝 추출물의 카드뮴 暴露에 대한 독성감소나 해독효과를 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

50마리 웅성(200-220g) Sprague-Dawley CD 흰쥐를 이용하였다. 暴露 전에 최소 10일 동안 흰쥐를 실험실 환경에 적응시켰고 실험을 위해 각각 10마리씩 정상군, 대조군, 흡입폭로군 I,

II, 및 III에 대해 무작위로 5개 그룹으로 분류하였다. 모든 흰쥐들은 12시간 조명주기로 22±1℃와 50% 습도로 제어되는 룸에 살게 하였다. 삼양유지사료(주)의 마우스(쥐)용 배합사료 그리고 1차 증류수는 暴露 동안을 제외하고 자유로이 공급하였다. 카드뮴 에어로졸 흡입챔버에서 暴露시작 1시간 후 그리고 暴露종료후 1시간 후 하루에 2회 관찰하였다. 체중은 暴露 첫날과 종료일 후 실험 전까지 전자저울을 이용하여 매주 토요일에 측정하였다.

2) 검액의 조제

본 실험에 사용한 牛膝은 경북 영천에서 가을에 채취한 뿌리를 건조하여 이용하였다. 건조시킨 후 분쇄기로 마쇄하여 분말로 만들었고 동근플라스크에 牛膝분말과 분말의 용량 5배에 해당하는 증류수를 첨가하여 50℃ 수욕조에서 진탕시키면서 24시간 동안 3회 추출하였다. 추출 후 5000g에서 30분간 원심분리시킨 다음, 여과하여 회전 농축기에서 감압하여 농축하였고 그 후 동결 건조기에서 -40℃에서 3일간 완전히 건조시켜 추출물 10.7g(수율 9.5%)을 얻었으며 이를 필요에 따라 3차 증류수로 용해하여 복강투여용 검액으로 사용하였다.

2. 방법

1) 설계

카드뮴 대조군과 흡입폭로군의 챔버내 카드뮴 에어로졸의 농도는 1mg/m³ 그리고 질량중위수직경(Mass Median Diameter: MMD)은 1.644µm로 설정하였으며 카드뮴 에어로졸 暴露와 검액의 복강내 투여를 각각 4주간 수행하였다(Table 1). 흰쥐들은 흡입챔버 밖에 있는 동안에는 흰쥐 사육 케이지에, 흡입챔버에 있는 동안에는 10마리를 그룹으로 하여 카드뮴 에어로졸에 暴露시켰다. 1주일에 1회 소변과 대변 시료의 채취를 위해 대사 케이지를 사용하였으며 사용하기 전에 카드뮴 오염을 감소시키고자 증류수로 세정한 후 10% 질산으로 세척하여 사용하였다¹⁵⁾.

Table 1. Group Classification and Design on Inhalation Exposure and Treatment of Extracts of Radix Achyranthis Bidentatae

Groups	N	Cd Concentration in Air (mg/m ³)	MMD ^a of Cd Aerosol (µm)	Dosage (mg/kg)
Normal	10	0	-	-
Control	10	1	1.644	Saline Only
Treated I	10	1	1.644	20
Treated II	10	1	1.644	40
Treated III	10	1	1.644	80

^aMass Median Diameter.

2) 카드뮴 에어로졸 暴露

대조군과 흡입폭로군에 대한 카드뮴 에어로졸의 暴露는 1일 6시간, 1주 5일, 및 4주간 수행하였다. 暴露 실험동안 흰쥐가 머물러 있었던 스테인레스 스틸로된 暴露 챔버는 전체 용적 0.66m³이었고 유효용적은 0.50m³이었으며 설정된 暴露농도를 발생시키고자 여러 가지 유량에서 동력학적으로 작동하였다. 유입공기의 입자제거를 위한 입자상 필터가 장착된 챔버, ultrasonic nebulizer 원리를 이용하는 에어로졸 발생기, 4개의 팬

으로 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 댐퍼를 이용하여 이루어졌다(그림 1). 에어로졸 발생기에서 네블라이징되는 용액의 온도는 70℃이었고 주 닥터로 유입되기 전의 입구 덕터의 온도는 20℃이었다¹⁴⁾.

흡入暴露 챔버내의 카드뮴의 공기중 농도와 그 변화를 관찰하고자 1주일에 5회 NIOSH 분석방법 P&CAM 173에 기초하여 개인시료포집기(224-PCXR8, SKC)를 이용하여 흡入暴露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 0.042ℓ에 대해 수행하였으며 10회 반복측정하여 카드뮴 입자에 대한 분석자료로 이용하였다.

측정된 각 입경별 계수는 Hinds¹⁶⁾가 제시하는 아래의 공식을 이용하여 기하평균입경, 기하표준편차, 및 질량중위수입경을 계산하였다.

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

dg: 기하평균입경, μm
ni: 입자계수
di: 대표경, μm

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

σg: 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
σg: 기하표준편차

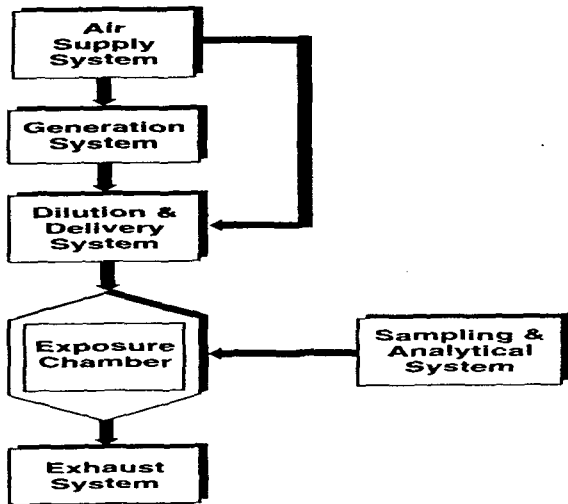


Fig. 1. Inhalation exposure system for cadmium aerosol

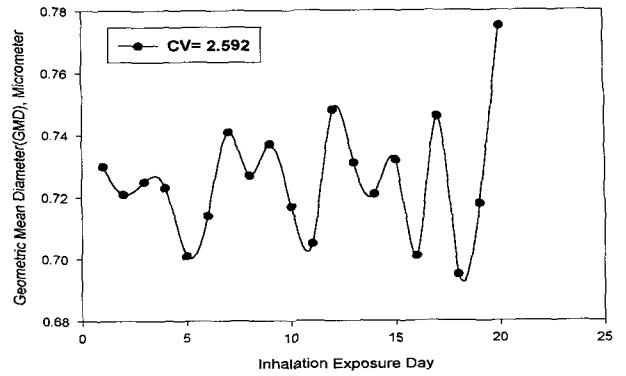


Fig. 2. Geometric mean diameter and its coefficient of variation

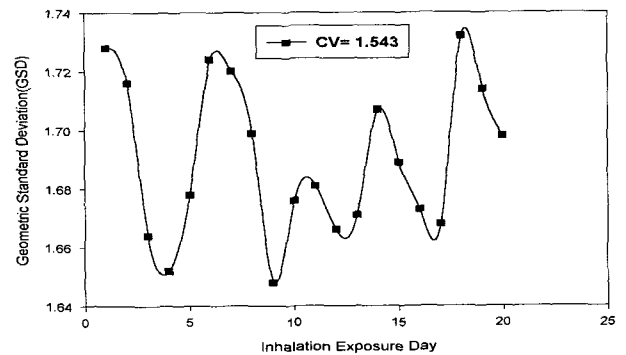


Fig. 3. Geometric standard deviation and its coefficient of variation

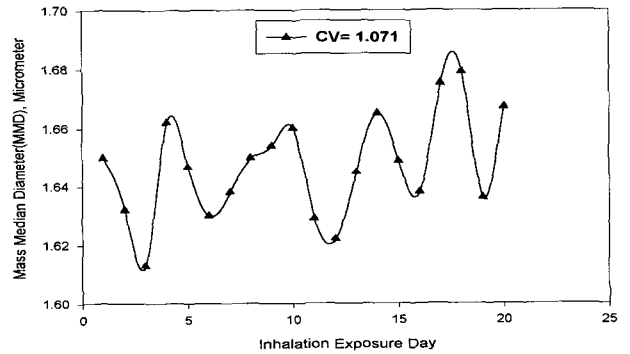


Fig. 4. Mass median diameter and its coefficient of variation

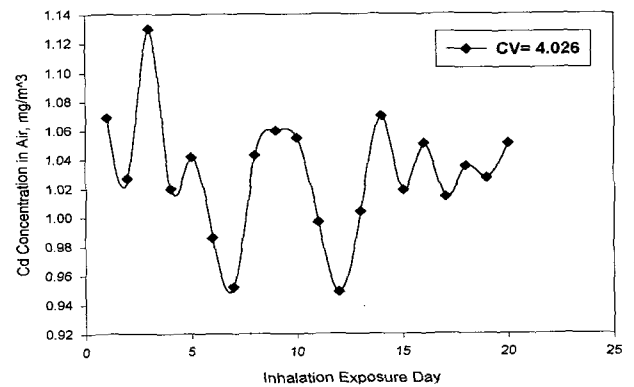


Fig. 5. Variation of cadmium concentration in air and its coefficient of variation

카드뮴 에어로졸에 대한 흰쥐의 흡입暴露 실험이 진행되는 동안에 흰쥐가 흡입暴露된 카드뮴 에어로졸의 기하평균직경, 기하표준편차, 질량중위수직경 및 공기중 농도와 각각에 대한 변이계수는 그림 2, 3, 4 및 5와 같다. 카드뮴 에어로졸 기하평균입경은 0.725 μ m, 기하표준편차는 1.690, 질량중위수입경은 1.647 μ m이었고 공기중 카드뮴 농도는 1.030mg/m³이었다. 변이계수는 기하평균입경의 경우 2.592, 기하표준편차의 경우 1.543, 질량중위수입경의 경우 1.071, 및 공기중 카드뮴 농도의 경우 4.026이었다.

3) 분석방법

4주간의 흡입暴露에서 얻어진 공기는 전처리 과정을 거쳐 카드뮴 함량에 대해 분석하였다. 소변과 대변은 흡입暴露시킨 후 매주 토요일에 대사 케이지 및 관련된 도구를 이용하여 채취하였고 카드뮴 함량에 대해 분석하였다. 소변의 용적과 대변의 중량은 각각의 농도 계산을 위해 기록하였다. 흡입暴露와 검액의 투여 실험종료 마지막 날에 정상군, 대조군 및 흡입 폭로군은 에테르 마취하에 복부 대동맥으로부터 헤파린 처리된 시험관에 혈액을 채취하였고 폐, 간장, 및 신장을 분리하여, 폴리에틸렌 바이알에 패킹시켜 전처리를 수행하기 전까지 냉장고에 보관하였다.

(1) 공기

필터와 공시료의 전처리와 분석은 P&CAM 173에 기초하여 진행하였다. 필터와 공시료는 깨끗한 125ml 비이커에 옮기고 6.0 ml 질산을 넣는다. 각 비이커를 시계접시로 덮고 시료가 용해되어 약간 노란 용액이 형성될 때까지 흡 후드에서 표면온도가 16 5℃인 핫 플레이트상에서 가열시킨다. 회화가 완결되면, 시계접시를 제거하고, 10% HNO₃로 필터 및 공시료 비이커를 헹군다. 그리고 난 다음 비이커를 100℃ 스티프 욕조에 넣고 건조되게 한다.

일단 건조되고 난 후에, 10% HNO₃ 3-5ml로 비이커의 벽을 헹구고 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. 필터에서 카드뮴의 농도계산은 아래와 같다.

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

(2) 혈액, 조직, 및 대변의 카드뮴

혈액 및 조직의 전처리와 분석은 NIOSH 분석방법 8005에 의해(17) 혈액 10g, 습한 조직(폐, 간, 신장) 1.0g을 옮기고 혈액에 10ml digestion acid 또는 각각의 조직에 5.0ml digestion acid를 넣었다. 대변은 110℃ 건조기에서 항량이 될 때까지 건조시켜서 550℃ muffle furnace에서 회화시켜 1g을 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. 그리고 난후 용량 플라스크(혈액에 대해 10ml; 조직에 대해 5ml)로 비이커에 들어있는 내용물을 옮기고 탈이온수로 눈금선까지 희석하였다. 원자흡광광

도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. 각 금속에 대해 측정된 용액농도, Cs($\mu\text{g}/\text{ml}$)에 평균 공시료 수치, Cb($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 고려하여 농도를 계산하였고 혈액에 대해서는 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 폐, 간, 신장, 장, 그리고 대변에 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 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 증발되어 거의 건조될 때까지 계속 가열하였다. 다음에 digestion tube를 냉각시킨 후 잔유물을 1% 질산에 용해시켰고 분석에는 20 μ l씩 주입하였다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150℃에서 30초간, 가열은 300℃에서 60초간, 그리고 원자화는 1950℃에서 8초간으로 설정하였다. 용액의 농도, 및 분석자료에서 공시료 평균, Cs($\mu\text{g}/\text{ml}$), Cb($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 계산하였다. 소변 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, 및 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 냉장보관하였던 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 계산하였다¹⁸⁾.

4) 혈액학적 분석

Hematocrit의 측정은 헤파린 처리한 모세관(Heparinized Micro Hematocrit tube 73810, Kimble)에 혈액을 넣어 12,000rpm에서 15분간 원심분리(Micro Hematocrit Centrifuge HA200, Hanil) 한 후 전혈액량에 대한 packed linear scale로 측

정하였으며 Hb, RBC, 및 WBC은 자동혈구계산기(K1000, Sysmax Co)를 이용하였다.

5) 통계학적 분석

자료는 윈도우용 SPSS/PC + 8.0을 이용하여 분석하였고 평균과 표준편차로 요약하였다. 성적에 대한 그래프의 작성은 SigmaPlot 5.0을 이용하였다. 자료의 통계학적 유의성 검정은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 One-Way ANOVA 및 Duncan's Multiple Range Test를 이용하였다.

결 과

1. 사료 섭취량 및 체중 증가량

식이 섭취량과 체중 증가량은 Table. 2와 같다. 하루당 식이 섭취량은 정상군이 18.85g이었고 흡입폭로군 I에서 18.99g으로 가장 높았고 대조군에서 13.42g으로 가장 낮았다.

4주 동안의 체중증가량은 정상군이 180.53g으로 가장 높았고 흡입폭로군 I에서 144.23g으로 가장 높았고 대조군에서 118.585g으로 가장 낮았다. 검액의 투여가 하루당 식이 섭취량과 4주간의 체중 증가량에 플러스적인 영향을 준 것으로 생각된다.

Table 2. Food Intakes, and Body Weight Gains

Group	N	Food Intake(g/day)	Body Weight Gain(g/4Weeks)
Normal	10	18.85 ± 6.44	180.53 ± 36.88
Control	10	13.42 ± 1.63 ^{ab}	118.58 ± 30.84 ^a
Treated I	10	18.99 ± 3.71	144.23 ± 20.81
Treated II	10	16.23 ± 4.98	135.70 ± 8.52
Treated III	10	17.19 ± 3.93	142.24 ± 23.03

Control: Saline only + Cd 1mg/ml. Treated I: Radix Achyranthis Bidentatae Extracts 20mg/kg + Cd 1mg/ml. Treated II: Radix Achyranthis Bidentatae Extracts 40mg/kg + Cd 1mg/ml. Treated III: Radix Achyranthis Bidentatae Extracts 80mg/kg + Cd 1mg/ml. ^ap<0.05 Compared to Treated I and III by Duncan's Multiple Range Test. ^bp<0.05 by One-Way ANOVA

2. 폐, 간장, 및 신장의 무게

폐, 간장, 그리고 신장의 무게는 Table. 3과 같다. 정상군의 폐 무게는 1.39g이었고 흡입폭로군 I에서 1.46g으로 가장 무거웠고 대조군에서 1.03g으로 가장 가벼웠다. 정상군의 간장 무게는 10.72g이었고 흡입폭로군 I에서 9.51g으로 가장 무거웠고 대조군에서 7.98g으로 가장 가벼웠다. 정상군의 신장의 무게는 1.67g이었고 흡입폭로군 III에서 1.89g으로 가장 무거웠고 대조군에서 1.56g으로 가장 가벼웠다. 검액의 투여는 폐, 간장, 신장의 무게 증가에 영향을 주었다.

Table 3. Weights of Lung, Liver, and Kidney (Unit: g)

Group	N	Lung	Liver	Kidney
Normal	10	1.39 ± 0.41	10.72 ± 2.52	1.67 ± 0.37
Control	10	1.03 ± 0.35 ^a	7.98 ± 2.48	1.56 ± 0.30 ^a
Treated I	10	1.46 ± 0.45 ^c	9.51 ± 2.16	1.82 ± 0.25
Treated II	10	1.33 ± 0.07	8.87 ± 0.90	1.85 ± 0.23
Treated III	10	1.38 ± 0.37	9.34 ± 2.35	1.89 ± 0.16 ^c

^ap<0.05 Compared to Treated I and III by Duncan's Multiple Range Test. ^bp<0.05 Compared to Treated I, II and III by Duncan's Multiple Range Test. ^cp<0.05 by One-Way ANOVA

3. 폐의 카드뮴 농도

폐에서 카드뮴을 분석한 결과와 95% 신뢰구간은 Table. 4와 같다. 정상군의 폐내에서 카드뮴의 함량은 0.066µg/g이었고 대조군에서 58.173µg/g으로 가장 높았고 흡입폭로군 I에서 33.494µg/g으로 가장 낮았다. 검액의 투여가 4주간의 카드뮴 흡입폭로로 폐내에 침착되어 있는 카드뮴의 제거에 긍정적인 영향을 준 것으로 생각된다.

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

Group	N	Cd Concentration	95% Confidence Interval
Normal	10	0.066 ± 0.010	0.059~0.073
Control	10	58.173 ± 22.933 ^{ab}	41.767~74.578
Treated I	10	33.494 ± 9.220	26.899~40.090
Treated II	10	38.547 ± 12.621	29.518~47.576
Treated III	10	37.688 ± 12.168	28.984~46.393

^ap<0.05 Compared to Treated I, II, and III by Duncan's Multiple Range Test. ^bp<0.05 by One-Way ANOVA

4. 혈액, 간장, 및 신장의 카드뮴 농도

혈액, 간장, 그리고 신장에서 카드뮴 함량을 분석한 결과는 Table. 5와 그림 6과 같다. 정상군의 혈중 카드뮴 농도는 0.216µg/dl이었고 흡입폭로군 II에서 14.043µg/dl로 가장 높았고 대조군에서 9.362µg/dl로 가장 낮았다. 정상군의 간장중 카드뮴 농도는 0.020µg/g이었고 대조군에서 29.047µg/g으로 가장 높았고 흡입폭로군 III에서 21.078µg/g으로 가장 낮았다. 정상군의 신장중 카드뮴 농도는 0.014µg/g이었고 대조군에서 23.211µg/g으로 가장 높았고 흡입폭로군 II에서 15.778µg/g으로 가장 낮았다. 검액의 투여가 폐에서 혈액으로의 운반 그리고 간장과 신장에서 카드뮴의 제거에 긍정적인 영향을 준 것으로 생각되고 혈액에서는 다소의 차이는 있었으나 투여량의 증가와 비례하여 카드뮴의 혈중농도가 증가하였고 간장과 신장에서는 투여량의 증가에 따라 조직중에 존재하는 카드뮴의 농도가 감소하였다..

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

Group	N	Blood(µg/dl)	Liver(µg/g)	Kidney(µg/g)
Normal	10	0.216 ± 0.040	0.020 ± 0.005	0.014 ± 0.003
Control	10	9.362 ± 0.988 ^a	29.047 ± 4.869 ^{bc}	23.211 ± 5.966 ^{bc}
Treated I	10	13.563 ± 7.047	24.650 ± 6.110	17.026 ± 2.227
Treated II	10	14.043 ± 3.891	22.848 ± 3.779	15.778 ± 4.568
Treated III	10	12.875 ± 4.395	21.078 ± 4.014	16.401 ± 3.340

^ap<0.05 Compared to Treated II by Duncan's Multiple Range Test. ^bp<0.05 Compared to Treated I, II and III by Duncan's Multiple Range Test. ^cp<0.05 by One-Way ANOVA

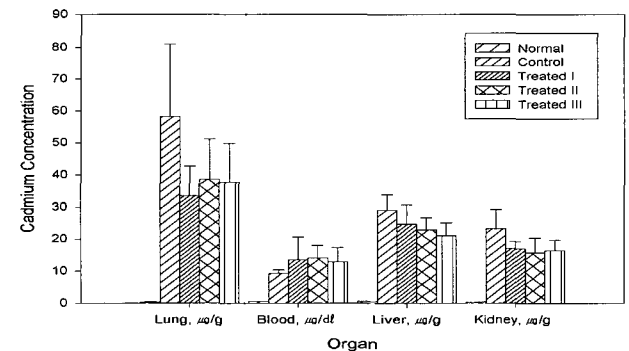


Fig. 6. Cadmium concentration in lung, blood, liver, and kidney

5. 소변과 대변에서 주별 카드뮴 농도

뇨에서 카드뮴을 분석한 결과는 Table. 6과 같다. 주별 뇨중으로 배설되는 카드뮴의 농도를 비교해 보면 1주제는 흡입폭로군 III에서 0.329 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 높았고 대조군에서 0.218 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮았다. 2주제는 흡입폭로군 I에서 0.330 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 높았고 대조군에서 0.222 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮았으며 3주제는 흡입폭로군 I과 III에서 0.344 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 높았고 대조군에서 0.216 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮았다. 4주제는 흡입폭로군 III에서 0.372 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 높았고 대조군에서 0.223 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮았다

4주간의 뇨중 카드뮴 배설에서 대조군에서는 4주간 그 배설양상에 큰 변화가 없었으나 흡입폭로군 I, II, III에서는 완만하게 증가하는 경향이 있었다. 검액의 투여는 흡입폭로군 I, II, 그리고 III에서 뇨중 카드뮴의 배설에 영향을 주는 것으로 생각된다.

Table 6. Cadmium Concentrations in Urine by the Week (Unit: $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Group	N	The Week			
		First	Second	Third	Fourth
Normal	10	0.032 \pm 0.005	0.028 \pm 0.004	0.028 \pm 0.004	0.028 \pm 0.005
Control	10	0.218 \pm 0.028	0.222 \pm 0.026	0.216 \pm 0.047	0.223 \pm 0.032
Treated I	10	0.325 \pm 0.046	0.330 \pm 0.066 ^a	0.344 \pm 0.039 ^a	0.356 \pm 0.051
Treated II	10	0.287 \pm 0.045	0.315 \pm 0.070	0.335 \pm 0.049	0.340 \pm 0.036
Treated III	10	0.329 \pm 0.051 ^a	0.310 \pm 0.044	0.344 \pm 0.085	0.372 \pm 0.065 ^a

^ap<0.05 by One-Way ANOVA.

대변에서 카드뮴을 분석한 결과는 Table. 7과 같다. 주별 대변중으로 배설되는 카드뮴의 농도를 비교해 보면 1주제는 흡입폭로군 III에서 0.297 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 대조군에서 0.195 $\mu\text{g}/\text{g}$ 로 가장 낮았다. 2주제는 흡입폭로군 I에서 0.231 $\mu\text{g}/\text{g}$ 로 가장 높았고 대조군에서 0.154 $\mu\text{g}/\text{g}$ 로 가장 낮았으며 3주제는 흡입폭로군 I에서 0.190 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 흡입폭로군 III에서 0.133 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 4주제는 흡입폭로군 III에서 0.178 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 대조군에서 0.157 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다.

4주간의 대변중 카드뮴 배설에서 흡입폭로군 모두에서 시간이 지남에 따라 대변중으로 배설되는 카드뮴의 양은 감소하는 경향이 있었으며 이는 카드뮴 흡입폭로 중지로 인한 영향인 것으로 생각되고 검액 투여에 의한 영향으로는 보이지 않는다. 시간의 경과에 따른 대변중으로 배설되는 카드뮴의 농도는 뇨에서의 카드뮴 배설과 다른 양상을 나타내었다.

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

Group	N	The Week			
		First	Second	Third	Fourth
Normal	10	0.020 \pm 0.003	0.020 \pm 0.003	0.020 \pm 0.008	0.022 \pm 0.008
Control	10	0.195 \pm 0.041	0.154 \pm 0.054	0.155 \pm 0.038	0.157 \pm 0.049
Treated I	10	0.227 \pm 0.089	0.231 \pm 0.060 ^a	0.190 \pm 0.061	0.172 \pm 0.036
Treated II	10	0.232 \pm 0.049	0.198 \pm 0.042	0.165 \pm 0.063	0.159 \pm 0.088
Treated III	10	0.297 \pm 0.076 ^a	0.211 \pm 0.053	0.133 \pm 0.076	0.178 \pm 0.080

^ap<0.05 by One-Way ANOVA.

6. 폐, 간장, 및 신장에서 metallothionein의 농도

폐, 간장, 그리고 신장에서 metallothionein을 분석한 결과는 Table. 8 및 그림 7과 같다. 폐에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 5.45 $\mu\text{g}/\text{g}$ 이었고 흡입폭로군 III에서 53.42 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가

장 높았고 대조군에서 21.42 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 간장에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 10.87 $\mu\text{g}/\text{g}$ 이었고 흡입폭로군 III에서 188.18 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 대조군에서 45.40 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 신장에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 11.03 $\mu\text{g}/\text{g}$ 이었고 흡입폭로군 III에서 143.92 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 대조군에서 47.52 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 검액의 투여는 인한 폐, 간장, 신장에서 metallothionein의 생성에 영향을 주었고 폐, 간장, 신장 모두에서 검액 투여의 양에 비례하여 metallothionein의 함량이 증가하는 용량-반응관계가 있었다.

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

Group	N	Lung	Liver	Kidney
Normal	10	5.447 \pm 1.233	10.865 \pm 1.987	11.032 \pm 3.228
Control	10	21.424 \pm 5.158 ^a	45.402 \pm 17.546 ^a	47.524 \pm 7.320 ^a
Treated I	10	43.048 \pm 11.064	171.440 \pm 31.315	136.386 \pm 48.188
Treated II	10	44.914 \pm 12.871	182.276 \pm 32.168	138.770 \pm 25.097
Treated III	10	53.417 \pm 15.946 ^a	188.180 \pm 31.951 ^a	143.923 \pm 28.414 ^a

^ap<0.05 Compared to Treated I, II and III by Ducan's Multiple Range Test. ^bp<0.05 by One-Way ANOVA.

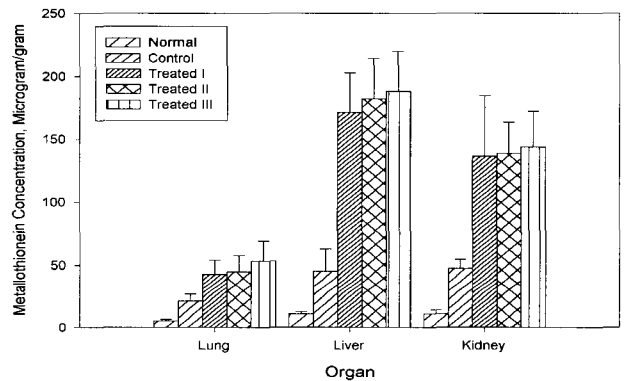


Fig. 7. Metallothionein concentrations in lung, liver, and kidney.

7. Hematocrit, Hb, RBC, 및 WBC

혈액에서 hematocrit, Hb, RBC, 그리고 WBC를 분석한 결과는 Table. 9와 같다. 정상군의 hematocrit은 43.81%이었고 흡입폭로군 II에서 43.44%로 가장 높았고 대조군에서 35.00%로 가장 낮았다. 정상군의 Hb는 14.57g/dl이었고 흡입폭로군 II에서 11.16g/dl로 가장 높았고 대조군에서 9.02g/dl로 가장 낮았다.

Table 9. Hematocrit(Hct), Hemoglobin(Hb), RBC, and WBC

Group	N	Hct(%)	Hb(g/dl)	RBC($10^6/\text{mm}^3$)	WBC($10^3/\text{mm}^3$)
Normal	10	43.81 \pm 15.08	14.57 \pm 3.84	7.73 \pm 2.07	9.61 \pm 2.16
Control	10	35.00 \pm 4.93	9.02 \pm 1.49 ^a	6.97 \pm 1.23	9.24 \pm 2.02
Treated I	10	41.65 \pm 14.03	9.80 \pm 1.53	7.44 \pm 1.85	9.61 \pm 2.36
Treated II	10	43.44 \pm 8.89	11.16 \pm 1.68 ^b	7.15 \pm 2.10	9.84 \pm 1.92
Treated III	10	40.32 \pm 15.24	10.34 \pm 1.91	8.13 \pm 1.95	9.80 \pm 2.48

^ap<0.05 Compared to Treated II by Ducan's Multiple Range Test. ^bp<0.05 by One-Way ANOVA.

정상군의 RBC는 정상군에서 $7.73 \times 10^6/\text{mm}^3$ 이었고 흡입폭로군 III에서 $8.13 \times 10^6/\text{mm}^3$ 로 가장 높았고 대조군에서 $6.97 \times 10^6/\text{mm}^3$ 으로 가장 낮았다. 정상군의 WBC는 정상군에서 $9.61 \times$

$10^3/\text{mm}^3$ 이었고 흡입폭로군 II에서 $9.84 \times 10^3/\text{mm}^3$ 로 가장 높았고 대조군에서 $9.24 \times 10^3/\text{mm}^3$ 로 가장 낮았다. 검액의 투여는 hematocrit, Hb, 그리고 RBC의 증가에 영향을 주었고 WBC에서는 이러한 영향을 볼 수 없었다.

고 찰

牛膝의 한의학적 應用은 活血祛瘀의 작용이 주로 下部로 行하기 때문에 婦女의 血滯經閉, 痛經, 月經不調 또는 跌撲損傷, 瘀滯作痛 등의 병증을 다스리므로 婦人科, 傷科의 각종 瘀血凝滯로 인한 모든 병증에 응용한다. 生用하는 경우, 活血작용과 通利關節의 효능이 있으므로 腰膝關節에 대한 疼痛의 병증을 다스린다. 또 熟用으로는 補肝腎, 強腰膝 등의 효능이 있으므로 肝腎不足으로 인한 腰腿痠痛, 足膝軟弱無力 등의 병증을 다스리는데, 臨床上 흔히 補肝腎 작용이 있는 약물인 杜仲, 桑寄生, 金毛狗脊, 木瓜 등의 약물을 배합하여 사용한다. 引血下行的 작용이 있으므로 上焦의 火를 降下시키며, 上部의 出血 병증에 대하여 止血시키는 작용이 있어 吐血, 衄血 또는 陰虛火旺으로 인한 牙齦腫痛 등의 병증을 다스린다^{13,21}. 牛膝의 주성분은 saponin, ecdysterone, inokosterone, oleanolic acid, glucuronic acid, 다량의 칼륨염, polysaccharide 등이다. 현재까지 牛膝 추출물에 대한 연구문헌은 항염증, 항산화, 간 보호, 항암작용 등 다양하게 보고되고 있으며²² 카드뮴의 흡입독성과 관련된 논문은 보고되지 않고 있다.

카드뮴에 대한 미국산업위생협회의 허용기준치는 $0.05\text{mg}/\text{m}^3$ 이다²³. 이것을 Niesink 등²⁴의 방법에 의해 안전계수 15를 적용한 몸무게, 暴露시간, 호흡량에 대한 브릿징을 하면 흰쥐에 대한 허용기준치는 $0.38\text{mg}/\text{m}^3$ 으로 본 연구에서 처리군은 2.7배 높은 허용기준치에 暴露되었다. 안전계수 10을 적용한 暴露시간에 대한 브릿징을 하면 흰쥐에 대해서는 허용기준치가 $0.67\text{mg}/\text{m}^3$ 으로 본 연구에서 처리군은 1.5배 높은 허용기준치에 暴露된 것으로 추정·계산될 수 있다. 이러한 브릿징을 하지 않을 경우 본 연구에서 카드뮴 에어로졸에 吸入暴露된 흰쥐는 허용기준치의 20.6배로 吸入暴露된 것이다. Massaro²⁵의 방법으로 폐에 대한 흡입투여량과 침착된 양은 강 등¹⁰의 연구에서는 각각 1.129mg 과 0.023mg 이었고 박 등¹¹의 연구에서는 흡입투여량이 1.169mg 이었고 폐에 침착된 양은 0.102mg 이었으며 본 연구에서는 흡입투여량이 1.19mg , 폐에 침착된 양은 0.10mg 이었다. 조직과 혈액내의 카드뮴 농도를 강 등¹⁰의 연구와 비교해 보면 처리군에서는 폐에서 1.4배, 간장에서 1.1배 강 등¹⁰의 연구결과가 높았고 신장에서 7배, 그리고 혈액에서 6.3배 본 연구결과가 높았다. 조직과 혈액내의 카드뮴 농도는 처리군에서는 폐에서 2.9배, 간장에서 1.8배, 신장에서 4.3배로 박 등¹¹의 연구결과가 높았고 혈액에서는 본 연구결과가 1.9배 높았다. 처리군 폐에서 카드뮴 농도는 본 연구결과가 강 등¹⁰, 박 등¹¹의 결과보다 낮았고 이는 검액의 투여가 폐에 침착된 카드뮴의 제거에 柿葉이나 桑葉 물 추출물 보다 영향을 많이 주는 것으로 생각된다. 혈액에서의 카드뮴 농도는 본 연구결과가 가장 높았고, 간장에서의 카드뮴 농도는 강 등¹⁰, 박 등¹¹의 연구결과 보다 낮았으며 신장에서의 카드뮴 농도는 박 등

¹¹의 연구결과가 가장 높았다. 이러한 현상은 폐에서 침착된 카드뮴이 혈액으로 이행되고 간에서 신장으로 그리고 신장에서 뇨를 통한 배설에 검액의 투여가 많은 영향을 주는 것으로 생각된다. 카드뮴에 대한 吸入暴露와 독성에 대한 연구는 Yoshikawa 등²⁰에 의해서 일부 수행되었지만 비교할 수 있는 자료는 많지 않다. 그의 연구에서는 흰쥐를 1일 6시간, 12주(3개월) 동안 공기중 카드뮴 흡 농도 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ 과 $1\text{mg}/\text{m}^3$ 에 吸入暴露되게 하였다. $1.0\text{mg}/\text{m}^3$ 에 吸入暴露된 흰쥐 10마리중 3마리는 연구시작 시점에서 46-49일째 되는 날 죽었고 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ 에 吸入暴露된 흰쥐에서는 사망이 없었고 대조군과 유사한 체중의 증가를 보였다. 그러나, 2주 동안의 吸入暴露 후 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ 그리고 $1.0\text{mg}/\text{m}^3$ 에 吸入暴露된 흰쥐의 폐 무게에서 증가가 있었다. 폐의 병리학적 소견의 관점에서, 3개월 흡입暴露 후 $1.0\text{mg}/\text{m}^3$ 흰쥐에서 폐섬유화 및 1단계 기종이 관찰되었고 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ 에 吸入暴露된 흰쥐에서는 더 완만하게 나타났으며 양자의 흰쥐에서 대조군과 비교해 체중의 증가 및 RBC, Hb, hematocrit의 변화는 없었다. 본 연구에서는 吸入暴露 동안에 죽은 흰쥐는 없었고 폐의 섬유화, 기종도 관찰되지 않았다. 카드뮴 공급식 식이 섭취량을 감소시키고 체중증가에 감소를 가져온다는 여러 보고가 있었으나^{26,27} 본 연구에서 식이 섭취량은 정상군에 비해 유의하게 감소하였고 대조군과 처리군 II, III의 비교에서도 유의한 차이가 있었다. 이와 더불어 체중증가량이 정상군에 비해 유의하게 감소하였고 대조군과 처리군 I, II, III의 비교에서도 유의한 차이가 있었다. 이러한 결과는 박 등¹¹의 연구결과와 유사하였으나 체중증가량에 차이가 없었던 Yoshikawa 등²⁰의 연구와는 다른 결과를 얻었다. 정상군에 비해 처리군에서 체중증가량이 감소된 것은 감소된 식이 섭취량에 기인한 것으로 생각되며 검액의 투여는 식이 섭취량 및 체중 증가량의 증가에 영향을 주는 것으로 생각된다. 혈액학적 변수 중에 Hb만이 정상군에 비해 유의한 차이가 있었고 Hct, RBC, WBC는 정상군과 흡입폭로군과의 비교시 유의한 차이가 없었으며 대조군과 처리군 I, II 및 III과의 비교시 유의성은 없었지만 대조군에 비해 처리군 I, II 및 III에서 수치적인 증가가 있었다. Hb는 대조군과 처리군과의 비교시 유의한 차이가 있었다. 이러한 결과는 카드뮴 에어로졸의 吸入暴露가 Hct, RBC, WBC에 영향을 주고 Hb에는 영향을 주지 않은 강 등¹⁰의 연구결과와 수치적인 차이는 있지만 유사한 점이 있었고 Hct, Hb에 영향을 주고 RBC, WBC에는 영향을 주지 않은 박 등¹¹의 연구결과와는 차이가 있었다. 공기중 카드뮴 에어로졸의 暴露농도, 입자의 질량중위수직경 등을 고려할 때, 이것은 변수의 차이에서 오는 결과보다는 柿葉, 桑葉, 牛膝 추출물의 투여가 카드뮴 에어로졸 吸入暴露에 의해 영향을 받는 혈액학적 측정인자에 어떠한 경로로든 영향을 주는 것으로 생각된다. 본 연구에서도 Yoshikawa 등²⁰의 연구에서와 같이 RBC에는 정상군과 차이가 없었으나 Hct와 Hb는 다소 차이가 있었다. 박 등¹¹의 연구결과와는 유사하였으나 Yoshikawa 등²⁰의 연구와 본 연구는 결과에 있어 많은 차이가 있었다. 이러한 차이의 원인은 첫 번째는 폐의 병리학적 소견에 대한 것인데 흡은 연소, 승화, 응결과 같은 기전에서 생성되는 미세한 입자상 물질이며 입자의 크기 범위는 $0.001-1.0\mu\text{m}$ 로 Yoshikawa 등²⁰의 연구에서는 입자의

크기를 규정하지 않았지만 본 연구에서는 입자의 크기 1.64 μm 는 Yoshikawa 등²⁰⁾의 연구와 비교해 볼 때 약 1640-1.64배 컸다. 입자의 크기가 크다는 것은 폐에 침착될 수 있는 양이 더 작다는 것을 의미하며 폐를 통한 체내로의 흡수가 낮다는 것을 의미한다. Snyder²⁷⁾에 의하면 흰쥐에서 1 μm 와 5 μm 의 입자크기를 비교할 때 폐에 침착되는 비율은 1 μm 가 5배 높다고 한다. Yoshikawa 등²⁰⁾의 연구에서 폐의 섬유화와 기종이 관찰된 것은 입자의 크기가 작은 흡을 이용하였고 흡입시 폐에 많은 침착이 있었고 체내로의 흡수가 많았다는데 기인한다고 할 수 있다. 따라서 카드뮴 에어로졸에 흡입시 침착되는 경우 입자의 크기에 따라서 나타날 수 있는 폐에 침착되는 카드뮴의 양의 차이로 인해 생리, 병리학적인 반응은 다를 수 있다는 것을 추정할 수 있고 카드뮴 에어로졸의 흡입실험에서 입자의 크기 즉 질량중위수직경을 규정한 것은 매우 중요함을 알 수 있다. 두 번째는 혈액학적 차이인데 이는 Yoshikawa 등²⁰⁾에서는 용해성이 낮은 금속 카드뮴 흡에 흰쥐를 흡입시켰고 본 연구에서는 용해성이 높은 염화카드뮴을 흡입시킴에 그 원인이 있는 것으로 생각되며 카드뮴 에어로졸의 입자크기가 동일하다면 염화카드뮴의 높은 용해성으로 인해 폐에 침착되고 난후 체내에 더 많은 양이 흡수될 수 있다는 것을 추정할 수 있다. Rusch 등¹⁵⁾과 Tsuchiya²⁸⁾은 입자의 크기이외에도 물질의 용해성이 독성을 결정하는 중요한 요인이라고 하였고 Tsuchiya²⁸⁾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 있다. 본 연구에서는 간장과 신장의 무게는 정상군에 비해 처리군 모두에서 유의하게 감소하였다. 이러한 연구결과는 류와 김²⁹⁾의 연구결과와 유사하였다. 그러나 폐의 무게는 정상군에 비해 처리군 I를 제외하면 약간 감소하였으나 유의성은 없었다. 각종 장기와 혈액의 카드뮴의 함량을 보면 4주간의 카드뮴 에어로졸의 흡입시 침착된 카드뮴 입자가 혈류를 통해 분포되는데 소요되는 시간 등에도 부분적인 원인이 있을 것으로 생각된다. 혈액내의 카드뮴 함량이 상대적으로 낮은 것과 폐에서 혈류로의 이동이 느리고 일단 혈류로 들어온 카드뮴이 간장과 신장으로 분포되고 최종적으로는 대부분은 소변을 통해서 그리

고 일부는 대변을 통해서 배설되었기 때문인 것으로 생각된다. 간장은 카드뮴의 노출경로에 관계없이 체내에서 카드뮴 축적이 가장 높은 기관으로 카드뮴에 의해 가장 독성을 나타내기 쉽고 하였고 강 등¹⁰⁾의 연구에서와 같이 본 연구에서도 신장보다 간장에서의 카드뮴 함량이 높았다. 그러나 박 등¹¹⁾의 연구에서는 간장보다는 신장에서의 카드뮴 농도가 더 높았는데 이는 Yoshikawa 등²⁰⁾의 연구와 유사하였다. 조직내의 metallothionein 농도를 강 등¹⁰⁾의 연구와 비교해 보면 대조군에서는 폐에서 2.5배, 신장에서 6.9배로 본 연구결과가 높았고 간장에서는 강 등¹⁰⁾의 연구결과가 2.1배 높았으며 처리군에서는 폐에서 1.8배, 간장에서 1.4배, 그리고 신장에서 13.1배로 본 연구결과에서 높았다. 조직내의 metallothionein 농도를 박 등¹¹⁾의 연구와 비교해 보면 대조군에서는 폐에서 1.2배, 간장에서 3.7, 신장에서 3배로 박 등¹¹⁾의 연구결과가 높았고 처리군에서는 폐에서 1.5배, 간장에서 2배, 신장에서 1.6배로 박 등¹¹⁾의 연구결과가 높았다.

강 등¹⁰⁾, 박 등¹¹⁾의 연구와 본 연구결과를 비교해 볼 때 이 등¹²⁾의 연구에서와 같이 대조군에 비해 검액을 투여한 처리군의 폐, 간장, 및 신장의 metallothionein은 모두 증가하였고 투여 농도 증가에 따라 metallothionein의 농도 또한 증가하는 용량반응의 결과를 얻었으며 이러한 용량-반응관계는 강 등¹⁰⁾, 박 등¹¹⁾의 연구에서 제시되지 않은 결과이었다. 강 등¹⁰⁾, 박 등¹¹⁾의 연구에서와 유사하게 본 연구에서는 검액의 투여가 카드뮴 에어로졸에 흡입시킴된 흰쥐의 간장과 신장에서 metallothionein의 생성 및 카드뮴의 제거기전에 많은 영향을 준 것으로 생각된다. 본 연구에서도 카드뮴 흡입시 침착된 카드뮴 입자가 혈류를 통해 분포되는데 소요되는 시간 등에도 부분적인 원인이 있을 것으로 생각된다. 혈액내의 카드뮴 함량이 상대적으로 낮은 것과 폐에서 혈류로의 이동이 느리고 일단 혈류로 들어온 카드뮴이 간장과 신장으로 분포되고 최종적으로는 대부분은 소변을 통해서 그리

본 연구에서는 카드뮴 에어로졸 흡입시 침착된 카드뮴 입자가 혈류를 통해 분포되는데 소요되는 시간 등에도 부분적인 원인이 있을 것으로 생각된다. 혈액내의 카드뮴 함량이 상대적으로 낮은 것과 폐에서 혈류로의 이동이 느리고 일단 혈류로 들어온 카드뮴이 간장과 신장으로 분포되고 최종적으로는 대부분은 소변을 통해서 그리

metallothionein의 생성 및 침착되어 있는 카드뮴의 제거기전에 영향을 준 것으로 생각된다. 실험동물의 폐에서 metallothionein의 유도에 대한 연구가 적어서 정확한 비교는 할 수 없으나 Itoh 등²⁹⁾은 colchicine 투여에 의해 폐의 정상군에 비해 3배 높은 농도의 metallothionein을 보고하였으나 본 연구에서는 검역 투여군의 폐에서 유도된 metallothionein의 농도가 정상군에 비해 약 8.7배, 대조군에 비해 약 2.2배 높았는데 이는 검역의 투여가 폐에서 metallothionein의 유도에 영향을 주는 것으로 생각된다. 검역 투여군의 간장에서 metallothionein은 정상군에 비해 약 16배, 대조군에 비해 약 4배 높았고 검역의 투여가 간장에서 metallothionein의 유도에 영향을 준 것으로 생각된다. 검역 투여군의 신장에서 metallothionein은 정상군에 비해 약 13배, 대조군에 비해 2.9배 높았고 검역의 투여가 신장에서 metallothionein의 유도에 영향을 준 것으로 생각된다. 이러한 연구결과는 강 등¹⁰⁾, 박 등¹¹⁾ 연구결과에서는 약한 용량-반응관계를 나타내었으나 본 연구에서는 폐, 간장과 신장에서의 metallothionein 함량이 있어 검역의 투여량 증가에 따라 용량-반응관계가 더 뚜렷했다. 이러한 것을 고려해 볼 때 검역의 투여는 카드뮴에 대한 metallothionein 중재에 의한 cytosol에서 카드뮴의 격리와 제거하는 능력에 영향을 주는 것으로 생각되고³⁰⁾ 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 생리학적 이점이 있을 수 있다³¹⁾. Sendelbach와 Klaassen³²⁾은 카드뮴의 형태에 따라 metallothionein의 생성량에 차이가 있음을 보고하였고 이러한 차이는 간장에 존재하고 있는 CdCl₂에 의해 생성되는 metallothionein의 양에 비하여 신장에 존재하는 metallothionein의 양이 현저히 작고 신장의 용해소에서 해리된 카드뮴 이온이 매우 작은 양의 metallothionein을 생성하기 때문에 만성 카드뮴 중독의 경우는 신장이 표적장기이고 급성 카드뮴 중독의 경우는 간장이 표적장기라고 하였다. 본 연구에서도 대조군, 처리군 I, II, 및 III에서 모두 신장의 metallothionein 농도보다 간장의 metallothionein의 농도가 높았고 이러한 결과는 강 등¹⁰⁾, 박 등¹¹⁾의 연구결과와 유사하였다.

본 연구에서 카드뮴 에어로졸에 흡입暴露된 흰쥐에 대해 검역을 투여한 결과 조직내 카드뮴 농도의 관점에서 폐, 신장, 간장에서 카드뮴의 제거에 영향을 주었고 metallothionein의 관점에서 간장, 신장, 및 폐에서 카드뮴으로 인한 독성의 완화에 영향을 준 것으로 생각된다. 그리고 체중증가량과 식이 섭취량에도 영향을 주었고 혈액 Hb에도 영향을 준 것으로 생각된다. 세계보건기구에서는 직업적 카드뮴 중독에 대해 특별한 의학적 치료방안이 없기 때문에 의학적, 공학적으로 예방의 중요성만을 강조하고 있다⁹⁾. 현재까지 카드뮴 중독은 효과적으로 치료하기가 어렵고. 명확하게 도움이 된다고 증명되지 않았지만, CaNa₂EDTA의 킬레이트 요법이 추천되어왔으며 Dimercaprol은 신장 독성을 증가시키기 때문에 사용할 수 없다. 실험동물에서 CaNa₂EDTA와

CaNa₂DTPA와 같은 다탄산킬레이트제(poly-carboxylic acid chelator)가 카드뮴에 暴露된 후 즉시 투여되었을 때 효과적일 수 있다는 보고가 있으나⁷⁾ 불행하게도 킬레이트제가 도달하지 못한 부분은 빨리 분포되기 때문에 킬레이트 요법은 시간이 경과함에 따라 효과가 급속히 떨어진다고 한다³³⁾. 따라서 킬레이트제의 투여는 급속히 暴露된 후 가능한 빨리 실행되어야 한다⁹⁾.

본 연구에서 검역의 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 생각된다.

결론

카드뮴의 흡입으로 유발된 독성에 牛膝 물 추출물의 영향을 연구하고자 흰쥐 흡입 폭로군은 1일 6시간, 1주일에 5회, 및 4주간 공기중 카드뮴 에어로졸에 흡입暴露되었고 카드뮴 에어로졸 농도는 1.03mg/m³, 질량중위수입경은 1.69μm으로써 각각의 흡입 폭로군에 대한 결과는 다음과 같다.

체중증가량과 식이섭취량은 처리군 I에서 가장 높았고 폐와 간장의 무게 또한 처리군 I에서 가장 높았다. 신장의 무게는 처리군 III에서 가장 높았다. 폐에서 카드뮴 함량은 처리군 I에서 가장 낮았고 대조군에서 가장 높았다. 혈중 카드뮴 농도는 대조군에서 가장 낮았다. 간장에서 카드뮴 농도는 처리군 III에서 가장 낮았고 신장에서의 카드뮴 농도는 처리군 II에서 가장 낮았다. 주별 소변중 카드뮴 농도는 4주째 처리군 III에서 가장 높았고 주별 대변중 카드뮴 농도는 1주째 처리군 III에서 가장 높았다. 폐, 간장, 신장의 metallothionein 농도는 처리군 III 가장 높았다. Hct, Hb 및 WBC는 처리군 II에서 가장 높았고 RBC는 처리군 III에서 가장 높았다.

결과적으로 牛膝 물 추출물의 복강내 투여로 카드뮴 에어로졸에 흡입暴露된 흰쥐의 간장, 신장, 및 폐에 대한 독성 영향을 감소시키는 것으로 나타났으며 이에 대한 정확한 기전에 대해서는 추가의 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 두뇌한국(Brain Korea: BK) 21사업과 2003년도 원광대학교 교비의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사한다.

참고문헌

1. Hardman, J.G., Limbird, L.E.: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th Ed. McGraw-Hill, New York, pp.1865-1867, 2001.
2. Elinder, C.G., Kjellstrom, T., Lind, B., Linnman, L., Piscator, M., and Sundstedt, K.: Cadmium exposure from smoking cigarettes: variation with time and country where purchased. Environ. Res., 32:220-227, 1983.
3. Williams P.L., Burson J.L.: Industrial Toxicology: Safety and

- Health Applicatons in the Workplace. Van Nostrand Reinhold. New York, pp. 242-245, 1998.
4. 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.
 5. Hadley, J.G., C.L. Sanders and A.W. Conklin: Rapid Solubilization and Translocation of Cadmium-109 Oxide Following Pulmonary Deposition. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 54:156-160, 1980.
 6. 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.
 7. Cantilena, L.R., Klaassen, C.D.: Decreased effectiveness of chelation therapy for Cd poisoning with time. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 63:173-180, 1982.
 8. 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.
 9. WHO: Cadmium, Environmental Health Criteria 134, Int. Prog. Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, 1992.
 10. 강성호, 천병렬, 김상덕, 송용선, 이기남, 정재열: 栝葉 추출물이 카드뮴에 흡입폭로된 랫드의 독성에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*. 16(1):78-88, 2002.
 11. 박재수, 정재열, 이택준, 강성호, 송용선, 이기남: 桑葉 추출물이 카드뮴에 흰쥐의 카드뮴 에어로졸 흡입독성에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*. 16(6):1243-1252, 2002.
 12. 이기남, 정재열, 송용선, 이정호, 유일수, 김신기, 백승화: 魚腥草 분획이 흰쥐 장기관내 카드뮴 축적과 Metallothionein 생성에 미치는 영향(VI). 22(1):22-32, 2001.
 13. 신민교: 임상 본초학. 영림사. pp.525-527, 1997.
 14. 정재열, 도날드 밀턴, 김태형, 이종영, 장두섭, 강성호, 송용선, 이기남: 카드뮴 흡입독성연구를 위해 설계된 에어로졸 발생장치에서 발생된 카드뮴 에어로졸의 입경분석. *동의생리병리학회지*. 16(5):1035-1041, 2002.
 15. Rusch GM, O'Grodnick JS, Rinehart WE: 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.
 16. Hinds, W. C. : Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles. John Wiley and Sons, New York, pp.392-394, 1982.
 17. Eller, P.M.: Method 8005 NIOSH Manual of Analytical Methods(NMAM), Fourth Edition. pp.1-6, 1987.
 18. Eaton DL, Cherian MG.: Determination of metallothionein in tissue by cadmium-hemoglobin assay. *Methods Emzymol*, 205:83-8, 1991.
 19. Tetsuo, Y., Kosanke, S.D., and Rikans, L.E.: 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.
 20. 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.
 21. Bensky, D. and Gamble, A.: Chinese Herbal Medicine Materia Medica. Eastland Press. pp.408-410, 1993.
 22. Shimomura, H., Sashida, Y. and Nakata, H.: Plant growth regulating activities of crude drugs and medicinal plants. *Shoyakugaku Zasshi*, 35:173-179, 1981.
 23. American Conference of Governmental Industrial Hygienists : Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 6th ed. ACGIH, Cincinnati, OH. pp.BE147-55, 1991.
 24. Niesink, R.J.M., Vries, J.D., Hollinger, M.A.: Toxicology Principles and Applications. CRC Press. New York, pp.575-604, 1996.
 25. Massaro, E.J.: Handbook of Human Toxicology. CRC Press, New York, pp.528-540, 1997.
 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, Pergamon Press, Oxford, 1975.
 28. Tsuchiya, K.: Cadmium Studies in Japan: A Review. Elsevier /North-Holland Biomedical Press. New York, pp.45-128, 1978.
 29. Itoh, N., Kasmatsu, M., Onosaka, S, Muto, N., Tanaka, K.: Colchicine-induced elevation of tissue metallothionein contents is mediated by inflammation-independent serum factor. *Toxicology*, 116:201-209, 1997.
 30. Choudhuri, S., Liu, W.L., Berman, N.E.J., Klaassen, C.D.: Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stage of development. *Toxicol. Lett.*, 84:127-33, 1996.
 31. Liu, J., Kershaw, W.C., 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.
 32. 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.
 33. 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.