

Cadmium, lead 및 aluminum에 의한 마우스 조직의 Cell death

최원철, 손주영*, 서석진, 성한기, 김영진
부산대학교 생물학과*

1. 서론

다세포생물에 있어서 체세포의 증식과 죽음의 균형이 없으면 개체는 정상시의 형태나 기능이 붕괴하는데 그 결과 세포의 죽음이 초래된다. 세포의 죽음에는 apoptosis와 necrosis의 두 가지로 구분된다 (Wyllie, *et al.*, 1980). Apoptosis는 UV, heat shock, tumor necrosis factor, virus infection, chemotherapeutic drug 등 외부의 자극에 의한 병리적인 세포의 죽음 현상으로 나타난다. 그 징후로서 핵 내 chromatin의 농축, 세포질의 수축, 핵 붕괴와 분절된 apoptosis body의 생성 등의 과정이 진행되면서 세포 전체가 분절되지만 세포 소기관들은 형태적으로 유지되는 특징이 있다(Thatte and Dahanukar, 1997). cadmium은 간 조직에서 apoptosis를 유도하는데 apoptosis의 조직내 증가가 시간적으로 necrosis보다 앞서 일어나면서 유전독성 물질로서 DNA 단사절단, frame shift 돌연변이, 염색체이상 등을 일으킨다 (Habeebu, *et al.*, 1998)

Lead는 마우스 조직세포에서 핵 내 염색질의 응축, 핵의 붕괴, 세포 내 미토콘드리아 cristae의 파괴와 소포체 분리 등 apoptosis 과정과 일치하는 세포 내 미세구조 변화를 일으킨다 (Hoffman, *et al.*, 1972).

Aluminium은 중추신경계에서 신경 변성을 일으키는 중금속이다 (Alfrey, *et al.*, 1972; Begman and Bates, 1984). 뇌 조직에서 apoptosis는 neurodegenerative disease의 일종인 Alzheimer's disease의 유발과 dopamine계 신경세포의 사멸로 발생하는 Parkinson syndrome과 여러 형태의 중추신경계 퇴행성질환의 유발에도 관여한다 (Su *et al.*, 1994; Anderson *et al.*, 1996).

그러므로 몇 가지 중금속들의 독성이 cell death를 유도하는 것을 마우스의 간, 신장, 뇌 및 폐 조직에서 조사하고자 한다.

2. 재료 및 방법

실험동물은 생후 10주정도 된 마우스(ICR strain)로서 총 40마리로 대조군 10마리, 실험군에 각각 10마리씩 실험시작 3주전부터 온도와 습도를 적정상태로 유지하였다. CdCl₂, Pb(NO₃)₂, AlSO₄ (Sigma) 0.5 mg/kg을 각각 하루 1회 주사하여 1, 2, 3개월 째에 간, 신장, 뇌, 폐를 1g씩 적출하여 Hematoxylin · Eosin staining으로 조직을 염색 관찰하였다. Metallothionein에 대한 antibody (Dako)와 secondary antibody (Pierce)를 사용하였으며, Western blot (Gibco/BRL)은 ECL kit를 사용하였다.

3. 결과

cadmium을 투여한 1개월의 신장 피질의 핵은 작게 수축되어 산재해 있고, 신소체들이 수축 붕괴되었다. 2개월간 투여한 신장 피질은 핵과 세포질이 수축되므로 수질의 핵내 염색질, 세뇨관과 기타 신장 구조들에 apoptosis가 일어났다. 3개월간 투여한 경우, 신장 피질과 수질의 핵과 세포질은 붕괴되어 apoptotic body가 산재해 있었다 (Fig.1.1. b,d,f). lead를 투여한 1개월의 신장피질에서 핵과 신소체의 수축이 시작되었고, 수질의 핵도 수축되었으며, 세포질은 불규칙적인 배열을 보였으며 apoptosis가 진행되었다. 2개월간 투여한 신장 피질은 핵이 수축되고 세포질은 1개월보다 더 손상되었다. 3개월간 투여한 신장 피질은 핵과 세포질에 많은 손상이 있었다. 수질은 사구체가 조금 수축되었고 뇨세관의 세포질은 완전히 붕괴된 상태로 길게 늘어져 보였다 (Fig.1.2. a,c,e). aluminum을 투여한 1, 2, 3개월의 신장피질과 수질은 정상조직과 비교하여 전체적으로 apoptosis가 많이 진행되지 않았다 (Fig.1.2. b,d,f).

cadmium을 투여한 1개월의 간 조직은 정상조직보다 간세포의 핵과 세포질은 수축되기 시작하였다 (Fig.2.1. b,d,f). lead를 투여한 1개월의 간세포 배열은 정상조직보다 세포질이 수축되면서 작아 보였고 핵은 형태를 점차 구별하기 어려운 정도로 apoptosis가 진행되었다 (Fig. 2.2 a,c,e). aluminum을 투여한 1, 2, 3개월의 간 조직은 간세포 배열이나 핵과 세포질에서 apoptosis가 진행되었다 (Fig.2.2. b,d,f).

cadmium을 투여한 1, 2, 3개월의 뇌 조직은 정상조직과 비교해볼 때 핵과 세포질의 apoptosis가 진행되었다 (Fig.3.1 b,d,f). lead를 투여한 2, 3개월의 뇌 조직은 세포질에 균열이 생기고 염색질의 응축과 핵의 붕괴되는 apoptotic cell death가 일어났다 (Fig.3.2 a,c,e). aluminum을 투여한 2, 3개월의 뇌 조직은 핵의 붕괴와 세포질이 수축되면서 apoptotic body로 나타났다 (Fig.3.2 b,d,f).

cadmium을 투여한 2, 3개월의 폐 조직은 핵이 많이 수축, 붕괴되고 세포질도 수축되어 apoptotic body가 관찰되었다 (Fig. 4.1 b,d,f). lead를 투여한 1, 2, 3개월의 폐 조직은 정상 폐 조직보다 세포질에 균열이 생기면서 핵과 세포질이 수축 붕괴된 apoptotic cells가 많이 관찰되었다 (Fig. 4.2 a,c,e). aluminum을 투여한 1, 2, 3개월의 폐 조직은 핵과 세포질이 모두 수축, 붕괴되어 단편화된 apoptosis가 일어났다. (Fig. 4.2 b,d,f).

중금속을 chelating시키는 단백질인 metallothionein에 대해 apoptosis가 진행된 정도에 따른 각 조직에서 metallothionein의 단백질의 변화 양상은 간 조직에서 Cd에 의한 apoptosis의 정도가 컸고, 전체적으로는 큰 차이가 없었다 (Fig. 5).

4. 고찰

Apoptosis는 특이적인 자극에 의해 DNA 절단을 동반한 세포의 죽음 현상이지만 생체에 있어서는 유익한 것이며, necrotic cell의 세포질은 조직화된 구조, granula 또는 vasculated cell의 특징을 보이는데 세포 손상 후 세포의 크기가 커지면서 원형질막의 파열로 완전한 형태를 가지지 못한다. cadmium과 납 등 독성 중금속에 의한 apoptotic cell death의 증가로 인해 apoptosis 과정이 정상적으로 진행되지 않았을 때 간의 기능이상인 hepatic damage와 신장에서 polycystic kidney 등의 조직손상이 나타난다(Thatte, 1997).

본 연구에서는 apoptosis가 가장 많이 일어나는 조직은 간과 신장이었고, 중금속의 독성 효과는 cadmium이 가장 크고, lead, aluminum순 이었다. 따라서 독성 중금속에 의한 apoptosis 유도 과정이 생물체의 항상성 유지에 필수적이라는 점과 metallothionein에 의한 중금속 독성 완화 작용은 조직 손상을 치유하기 위한 기초 자료가 될 수 있다고 생각한다.

5. 요약

세포손상으로 나타나는 necrosis와 핵과 세포질의 수축과 세포의 부피가 감소되는 apoptosis 과정은 3가지 중금속의 독성 작용의 영향을 받아 1, 2, 3개월로 시간이 경과할수록 마우스의 간, 신장, 뇌, 폐 조직에서 cell death 정도가 심해진다. 카드뮴을 투여한 1, 2, 3 개월의 장기조직에서 염색질의 응축, 핵과 세포질의 수축과 함께 크고 작은 apoptotic bodies가 조직 주위에 산재하면서 전체적인 apoptosis가 진행되었다. 납을 투여한 경우, 1개월에서는 전체 조직에서 초기 apoptosis 현상이 관찰되면서 2, 3 개월로 경과함에 따라 핵과 세포질이 변화와 함께 apoptosis가 진행되었다. 특히 간과 신장에서 necrosis가 전체적으로, 뇌와 폐에서는 부분적으로 관찰되었다. 알루미늄을 투여한 경우 2, 3 개월의 뇌 조직에서는 apoptosis가 진행되면서 necrosis도 심하게 나타났다. 그리고 apoptosis가 진행되어 가면서 각 조직에서 나타나는 금속결합 단백질인 metallothionein의 변화 양상을 분석한 결과, 간 조직에서 카드뮴에 의한 apoptosis의 유도 정도가 컸고, 다른 조직에서는 큰 변화가 없었다. 이와 같이 카드뮴, 납과 알루미늄은 간, 신장, 뇌, 폐 조직에서 apoptosis를 유도하였고, 시간이 경과할수록 necrosis도 나타나는 것으로 확인되었다.

6. 참고문헌

Wyllie, A. H., J. F. R. Kerr and A. R. Currie, 1980, Cell death: The significance of apoptosis., *Int. Rev. Cytol.* 68,251-306

Thattai U. and S. Dahanukar, 1997, Apoptosis clinical relevance and pharmacological manipulation. *Drugs* 54(4),511-532

Habeebu S. S. M., J. Liu and C. D. Klaasen, 1998, Cadmium-Induced Apoptosis in Mouse Liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 149, 203-209

Hoffmann E. O., R. A. Trejo, N. R. Diluzio and J. Lamberty, 1972, Ultrastructural alterations of liver and spleen following acute lead administration in rats. *Exp. Molecul. Pathol.* 17,159-170

Boegman R. J. and L. A. Bates, 1984, Neurotoxicity of aluminum. *Can. J. Physiol. Pharm.* 62,1010-1014

Desmouliere A., C. Badid, M. L. B. Pierrat and G. Gabbiani, 1997, Apoptosis during wound healing, fibrocontractive diseases and vascular wall injury. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 29,19-30