韓國營養學會誌 21(6) : 410~420, 1988
Korean J Nutr Vol 21(6) : 410~420, 1988

식이내 Cadmium과 단백질 수준이 흰쥐의 체내 단백질 대사 및 Cadmium 중독에 미치는 영향*

이 혜 영 · 김 미 경
이화여자대학교 식품영양학과

Effects of dietary Cadmium and Protein Levels on the Body Protein Metabolism and Cadmium Toxicity in Growing Rats

Hye-Young Lee, Mi-Kyung Kim
Dept. of Food and Nutrition, Ewha Womans Univ., Seoul Korea

=Abstract=

This study was performed to investigate effect of dietary cadmium(Cd) and protein levels on growth, body protein metabolism and Cd toxicity in growing rats.

Forty eight male rats of Sprague-Dawley weighing 113± 2g were blocked into 6 groups accoridng to body weight. Dietary protein were given at the levels of 7, 15 and 40% of diet and Cd(200ppm) were either added or not.

The results obtained were summerized as follow ;

1) Food intake, weight gain, FER, PER, liver and kidney weight, weight and length of bones, hematocrit, and hemoglobin content in Cd-added groups were lower than those in Cd-free groups.

2) Serum total protein showed no significant difference with Cd addition, but it was signficantly lower in low protein diet groups. Liver protein in Cd-added groups was lower than Cd-free groups, and was tend to be increased with increasing dietary protein level.

3) Daily urinary and fecal nitrogen excretions in Cd-added groups were lower than Cd-free groups, and were increased with increasing dietary protein level.

4) Cadmium contents in blood, liver, kidney, and femur were tend to be decreased with increasing dietary protein level. Especially, Cd content in kidney of Cd-added groups was significantly decreased with increasing dietary protein level.

5) Daily urinary and fecal Cd excretions were tend to be increased with increasing dietary protein level, and Cd-added-high protein diet group showed the highest Cd excretion among the Cd-added groups. Cd absorption ratio and Cd retention ratio were tend to be decreased with increasing dietary protein level.

접수일자 : 1988년 10월 31일
*본 연구는 한국과학재단 1986~1987년도 기초연구비(일반연구)에 의하여 이루어졌으며, "유독성 중금속의 흡수억제 및 제독에 관한 연구" 제3보로 한다.

서 론

급속한 산업발달로 인해 유해성 중금속에 의한 환경오염과 이로인한 식품오염은 심각한 사회문제로 대두되고 있다. 환경 중의 중금속들은 미량일지라도 오랜 기간동안 계속적으로 체내에 들어올 경우 점진적으로 체내 특정기관의 조직내에 축적되어 비정상적인 체내 대사를 유발하게 된다[2].

Cadmium(Cd) 독성에 대한 관심은 1968년 일본에서 발생했던 Itai-Itai disease에 의해 크게대두 되었고, 이의 가장 대표적인 중독 증세는 osteopathy와 renal dysfunction이었다고 한다[1)30]. 환경에 존재하는 Cd은 주로 식품, 식수, 공기, 흡연을 통해 인체에 들어오게 된다. 이외에도 Cd은 전기도금(electroplating), 안정제(Stabilizer), 색소(pigment), 건전지(batteries)등의 공업에 이용되며 plastic 산업에서 색소화합물질로서 이용이 증가되고 있어 여기에 종사하는 사람들의 Cd중독 위험성이 더욱 증가된다고 한다[2]. 대기, 식수, 식품등을 통해 체내로 들어오는 Cd양은 성인 한 사람의 경우 약 50~60μg/day 정도라고 하며, 이중 식품을 통해 경구적으로 섭취되는 Cd양은 약 15~34μg/day로써 섭취되는 Cd의 5~10%가 장으로부터 흡수된다고 한다[2)13)15]. 한편, 흡연으로 인한 Cd흡입도 상당량인데 하루에 20가치의 담배를 피울경우 약 2~4㎍의 Cd이 폐를 통해 흡수된다고 한다[2)33]. 일반적으로 출생시에는 인체내에 Cd이 존재하지 않지만 40~60년을 살아오는 동안 약 20~30mg의 Cd이 인체내에 축적되고, 체내 Cd 총축적량의 50~80%가 간과 신장조직에 분포된다고 한다[2]. 그러나, 만성적으로 Cd에 노출될 경우 신장에 축적되는 Cd양이 크게 증가되어 200ppm을 넘게되면 신장기능장애가 나타난다고 한다[30]. 또 Cd은 내분비기관인 tyroid, pancreas, salivery gland, adrenal grand에도 축적되어 체내 호르몬 대사에도 영향을 미친다고 한다[2].

Cd독성은 나이, 성별, 개체의 영양상태에 따라 달라지는데 신생아나 성장기 어린이의 경우 성인보다 Cd흡수 및 보유능력이 높아 Cd중독에 더욱 예민하다고 한다. Slobodan Jugo[4]는 나이가 어릴수록 장세포의 미성숙으로 인해 비선택적 투과와 pinocytic activity가 활발하여 중금속의 흡수능력이 높아진다고 했고, Kostial[5]은 어린 동물일수록 장점막세포 및 장기조직에 존재하는 ligand에 대한 중금속의 친화력이 높아서 체외로의 중금속 배설을 감소시킴으로써 동일한 양의 Cd섭취시 성숙한 동물보다 Cd중독 위험이 증가된다고 했다. 그리고 임신 및 수유로 인해 체내 칼슘보유량이 감소된 여성이나 전반적인 영양불량상태의 사람에게서 Cd중독 위험성이 증가된다고 한다[1)3)15]. Cd중독에 의해 나타나는 중독증세로는 체중감소, 빈혈, 간과 신장등 장기조직의 생화학적 형태학적 변화, 고혈압, 단백뇨, 골연화증상, 중추신경계의 이상 등이 있다.

Cd중독은 식품중의 Cd함량외에 다른 식이인자의 영향을 크게 받는데, 특히 Ca, Fe, Zn, Se등의 무기질이 Cd의 장내 흡수단계에서 상호경쟁적으로 작용하여 Cd흡수를 억제시키고, 간과 신장조직내의 Cd축적을 감소시킨다고[6)-17)29], 하며 특히 단백질과 Ca, Fe이 부족한 식이를 공급할 경우 Cd중독의 피해가 증가되었다는 보고들이[18)19)22)-26)49] 있다. 최근 Cd독성과 중금속이온 운반 단백질인 metallothionein (MT)의 관계에 대해 여러 보고들이[25)-28)] 나온바 있는데, Cd에 장기간 노출될 경우 주로 간과 신장조직에서 MT합성이 증가되어 free Cd과 결합하게 된다. 이 MT은 조직내에서 Cd과 결합하여 non-toxic 형태로 전환시킬 뿐 아니라 신장을 통한 Cd배설을 돕는등 전반적인 체내 Cd대사 및 Cd중독에 대해 보호적 효과를 나타낸다고 한다. 이처럼 Cd중독시 무기질 및 MT의 영향에 관한 단편적인 연구보고는 있으나, 이들의 영향은 상호복합적으로 나타나므로 자세한 기전을 규명하기 어려우며, Cd중독시 체내 대사변화에 관한 보고는 별로 없는 상태이다. 또한 본 실험실에서 고단백식이 공급시 납중독이 완화되는 것을 관찰할 수 있었던 바, 본 연구에서는 Cd중독이 흰쥐의 성장 및 체내 단백질대사에 미치는 영향과 식이 단백질 수준이 Cd중독에 미치는 영향 및 기전을 함께 알아보고자 하였다.

실 험 재 료

1. 실험동물의 사육

평균체중이 112.5± 2.1g인 Sprague Dawley종 숫컷 흰쥐 48마리를 실험시작 전 환경에 적응시키기 위하여 표준식이(15% Casein diet)로 3일간 사육한 후, 체중에 따라 난괴법에 의해 8마리씩 6군으로 나누어 30일간 Table 1과 같은 내용으로 사육하였다

실험동물은 Stainless steel cage에서 한마리씩 분리 사육하였다. Cd 공급은 cadmium chloride($CdCl_2$)를 무게비로 0.02%수준(0.0067%의 Cd)으로 식이에 섞어 공급하였고, 물은 탈이온 증류수를 제한없이 먹도록 하였다.

Cd흡수율 측정을 위해 실험 종료전 5일간 하루에 한 번 일정한 시간에 1㎎ $CdCl_2$/0.1㎖ 탈이온 증류수를 tube feeding으로 투여하였고, 이 기간중 마지막 3일간 뇨와 변을 채취하였다. 이 5일간의 식이에는 $CdCl_2$를 첨가하지 않았으며, Cd을 공급하지 않은 동물에게는 증류수 0.1㎖를 tube feeding시켰다.

2. 실험동물의 식이

본 실험에 사용한 식이의 구성 성분은 Table 2와

Table 1. Classification of experimental animals

Experimental groups[1)]	Dietary protien level(%)[2)]	$CdCl_2$ addition level(%)[2)]
LO	7	0
LCd	7	0.02
SO	15	0
SCd	15	0.02
HO	40	0
HCd	40	0.02

1) LO : Low protein diet group.
LCd : Cd added low protein diet group.
SO : Standard protein diet group.
SCd : Cd added standard protein diet group.
HO : High protein diet group.
HCd : Cd added high protein diet group.
2) Percentage(W/W) of total diet.

Table 2. Compositions of experimental diets. (per kg diet)

Exp. groups / Ingredients	LO	LCd	SO	SCd	HO	HCd
Corn starch(g)	790	789.8	710	709.8	460	459.8
Casein(g)	70	70	150	150	400	400
Corn oil(g)	100	100	100	100	100	100
Cadmium chloride(g)	—	0.2	—	0.2	—	0.2
Salt mixture[1)](g)	40	40	40	40	40	40
Vitamin A.D. mixture[2)](ml)	1	1	1	1	1	1
Vitamin E.K. mixture[3)](ml)	2	2	2	2	2	2
Water soluble vitamins[4)]	*	*	*	*	*	*
Vitamin B_{12}[5)](ml)	1	1	1	1	1	1

1) Composition of slat mixture(/㎏ diet) : Calcium Phosphate, dibasic 20g, Sodium Chloride 2.96g, Potassium Citrate Monohydrate 8.8g, Potassium Sulfate 2.08g, Magnesium Oxide 0.96g, Manganouse Carbonate 0.14g, Ferric Citrate $6H_2O$ 0.24g, Zinc Carbonate 0.064g, Cupric Carbonate 0.012g, Potassium Iodate 0.0004g, Sodium Selenite 0.0004g, Chromium Potassium Sulfate 0.0002g, Sucrose to make 40.0g.
2) Vitamin A.D. mixture(/㎖ corn oil) : Vitamin A 0.1㎎, Vitmain D 0.01㎎.
3) Vitamin E.K. mixtuge : α-tocopherol acetate 0.05g , Menadion 2㎎, Corn oil 2㎖
4) Water soluble vitamin mixture(/㎏ diet) : Choline Chloride 2,000㎎, Thiamin Hydrochloride 10㎎, Riboflavin 20㎎, Nicotinic acid 120㎎, Pyridoxine 10㎎, Calcium pantothenate 100㎎, Biotin 0.5㎎, Folic acid 4㎎, Inositol 500㎎, Para-Amino Benzoic acid 100㎎.
5) Vitamin B_{12} solution : Vitamin B_{12} 1㎎/100㎖ distilled water.

같다. 탄수화물 급원으로는 옥수수 전분(Corn Starch, 두산곡산)을 사용하였고, 지방 급원으로는 옥수수유(Corn Oil, 서울 식품)를 사용하였으며, 단백질 급원으로는 Casein(Port Curtis Coop Dairy)을 사용하였고 무기질과 비타민류를 첨가하였다.

3. 실험방법

1) 식이 섭취량과 체중 측정

식이 섭취량은 실험기간동안 매일 일정한 시간에 측정하였고, 체중은 매주 한 번씩 일정한 시간에 측정하였으며, 식이효율(Feed Efficiency Ratio)과 단백질효율(Protein Efficiency Ratio)을 산출하였다.

2) 각종 장기, 혈액, 뇨, 변의 채취 및 분석

(1) 혈액의 채취

혈액은 실험기간 종료시 12시간 굶긴 동물들을 ethyl ether로 마취시켜 heart puncture 방법으로 채취하여 채혈직후 hematocrit, hemoglobin을 측정하고 나머지 혈액은 heparin 처리된 시험관에 받아 Cd분석을 위해 냉동보관하였고, 일부는 2000rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청(serum)을 얻었다.

(2) 간, 신장, 뼈의 채취

채혈직후 실험동물을 해부하여 간과 신장과 무게, 대퇴골(Femur)과 경골(Tibia)의 무게 및 길이를 측정하였다.

(3) 뇨, 변의 채취

실험종료전 3일간 stainless steel metabolic cage에서 뇨와 변을 채취하였다.

(4) 혈청과 간의 총단백질함량 및 뇨와 변의 질소함량 분석

혈청의 총단백질함량은 Lowrg법[52]에 의해 분광분도계(Spectonic® 21, Bausch & Lomb) 660nm에서 비색정량하였다.

간의 총단백질함량과 뇨, 변의 질소함량은 micro-kjeldahl법[55]으로 측정하였다.

(5) Hemoglobin과 Hematocrit측정

Hemoglobin은 채혈직후 Sahli씨 색소계를 사용하여 측정하였고, hematocrit은 heparin처리된 모세관에 빨아올려 hematocrit centrifuge에서 원심분리시킨후 packed red cell volumn의 백분율을 측정하였다.

(6) 혈액, 장기 및 뼈의 Cd측정

혈액과 뇨중 Cd함량은 Zinterhofer법[53]에 의해 수포화 MIBK(Methyl Isobutyl Ketone)로 Cd을 추출한 후 원자흡광계(Atomic Absorption Spectrophotometer, Perkin-Elmer Co, Model 2380) 228.8nm에서 측정하였다. 간, 신장, 뼈, 변의 Cd함량은 110℃ drying oven에서 항량이 되도록 건조시킨후 550℃ muffle furnace에서 회화시켜 Yeager법[54]을 이용하여 원자흡광계 228.8nm에서 측정하였다.

(7) 체내 Cd흡수율과 보유율

ㄱ) Cd흡수율(%)

$$= \frac{\text{1일동안의 Cd경구투여량}(\mu g) - \text{1일동안의 변배설량}(\mu g)}{\text{1일 동안의 Cd경구투여량}(\mu g)} \times 100$$

ㄴ) Cd보유율(%)

$$= \frac{\text{1일 동안의 Cd 보유량}(\mu g)}{\text{1일 동안의 Cd경구투여량}(\mu g)} \times 100$$

(8) 뼈의 Ca함량측정

대퇴골을 600℃ muffle furnace에서 회화한 후 1N HCl을 넣어 녹이고 0.5% La_2O_3 용액으로 희석하여 원자흡광계 427nm에서 측정하였다.

3) 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였고, $\alpha=0.05$수준에서 Scheffé법에 의해 각 실험군의 평균치간의 유의성을 검정하였다.

각 실험인자(A : 식이 단백질 수준에 의한 영향, B : Cd공급 유무에 의한 영향, AB : 식이 단백질 수준과 Cd공급의 상호작용에 의한 영향)들의 영향은 $\alpha=0.05$수준으로 F test에 의해 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

Table 3에서 보는 바와 같이 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율, 단백질효율은 Cd공급에 의해 유의적으로 감소되었다. 이는 Cd공급이 직접적으로 식이섭취량 감소에 영향을 미치거나, Cd공급으로 체내 영양소의 흡수 및 대사에 변화가 생겨 식이효율과

Table 3. Food intake, weight gain, FER and PER, liver and kidney weights of experimental rats

Exp. groups	Food intake (g/day)	Weight gain (g/30days)	FER	PER	Liver weight (g)	Kidney weight (g)
LO	12.42± 0.63[1)a2)]	32.24± 3.56[b]	0.09± 0.01[b]	1.25± 0.18[a]	4.68± 0.35[b]	1.05± 0.07[b]
LCd	6.87± 0.54[b]	−13.2[illegible]± 5.21[c]	−0.08± 0.03[c]	−1.19± 0.38[c]	3.39± 0.29[b]	0.81± 0.05[b]
SO	12.87± 1.23[a]	100.37± 19.04[a]	0.24± 0.04[a]	1.61± 0.26[a]	6.52± 0.49[a]	1.47± 0.09[a]
SCd	8.10± 0.58[b]	15.72± 4.82[b]	0.06± 0.02[b]	0.42± 0.10[b]	4.08± 0.20[b]	0.96± 0.05[b]
HO	14.65± 0.65[a]	148.28± 11.53[a]	0.34± 0.01[a]	0.84± 0.04[a]	7.64± 0.16[a]	1.97± 0.05[a]
HCd	9.57± 0.48[b]	26.60± 8.31[b]	0.09± 0.02[b]	0.23± 0.06[b]	5.31± 0.41[b]	1.28± 0.06[b]
Significant factor[3)]	A,B	A,B,AB	A,B	A,B	A,B	A,B

1) Mean± SE
2) Values with same alphabet within the column are not signficantly different at α=0.05 level by Scheffé test.
3) A : Effect of dietary protein is significant at α=0.05 level by F test.
B : Effect of Cd administration is significant at α=0.05 level by F test.
AB : Effect of interaction between dietary protein and Cd is signficant at α=0.05 level by F test.

Table 4. Bone length and weight, ash and calcium contents in fumer of experimental rats

Exp. groups	Bone length(cm)		Bone weight(g)		Ash content	Ca content
	femur	tibia	femur	tibia	(mg/g femur)	(mg/g femur)
LO	2.98± 0.04[1)ab2)]	3.38± 0.04[ab]	0.50± 0.03[b]	0.39± 0.01[b]	310.9± 19.1[a]	165.2± 37.9[N.S4)]
LCd	2.70± 0.07[b]	3.23± 0.07[b]	0.37± 0.02[b]	0.37± 0.02[b]	243.7± 11.4[b]	97.5± 2.7
SO	3.17± 0.08[a]	3.57± 0.06[a]	0.62± 0.04[a]	0.61± 0.03[a]	288.1± 11.1[ab]	261.1± 50.7
SCd	2.74± 0.07[b]	3.30± 0.06[b]	0.40± 0.03[b]	0.38± 0.03[b]	234.0± 17.5[b]	101.9± 13.6
HO	3.32± 0.06[a]	3.73± 0.06[a]	0.68± 0.02[a]	0.61± 0.02[a]	313.1± 6.5[a]	168.6± 36.6
HCd	2.98± 0.02[b]	0.50± 0.06[ab]	0.45± 0.02[b]	0.42± 0.03[b]	260.8± 6.9[ab]	147.7± 40.2
Significant factor[3)]	A,B	A,B	A,B	A,B	B	B

1) Mean± SE
2) Values with same alphabet within the column are not signficantly different at α=0.05 level by Scheffé test.
3) A : Effect of dietary protein is significant at α=0.05 level by F test.
B : Effect of Cd administration is significant at α=0.05 level by F test.
4) N.S : Not significant at α=0.05 level by Scheffé test.

단백질효율이 감소됨으로써 체중감소현상이 나타난 것으로 생각된다. 특히 LCd군은 실험초기보다 체중이 감소되었고 식이효율과 단백질효율이 가장 낮았던 것으로 보아 저단백질식이 공급시 Cd독성의 영향이 더 크게 나타난다는 보고들과[22)-26)]과 관계가 있을 것으로 생각된다.

간과 신장의 무게(Table 3)는 Cd공급시 감소되었으나, 전체 체중에 대한 장기의 비율을 산출하여 보면 Cd을 섭취하지 않은 군에 비하여 Cd을 공급시 저단백질군(3.1%→3.6%), 표준단백질군(3.1%→3.3%), 고단백질군(2.9%→3.6%)에서 모두 증가되었고, 신장의 비율도 저단백질군(0.7%→0.9%), 표준

단백질군(0.7→0.8%), 고단백질군(0.8%→0.9%)에서 모두 약간씩 증가되었다. 이는 Cd중독시 장기조직의 괴사현상이 나타나고 비대해 진다는 보고들과[34)-36)] 일치하는 것이었다.

뒷다리 뼈의 길이와 무게, 대퇴골의 회분함량 및 Ca함량(Table 4)도 Cd공급시 감소되었는데, 이것은 Cd과 Ca이 흡수와 배설, 뼈로의 이동 및 축적되는 과정에서 서로 경쟁적으로 작용하기 때문에 뼈내의 Cd과 Ca함량이 역의 관계에 있다는 여러보고로[9)-17)] 미루어 볼때 Cd이 Ca대사에 장애를 일으켜 뼈의 성장이 억제된 것으로 생각된다. Cd은 직접 장세포에서 1.25-dihydroxycholecalciferol의 작용을 방해하거나 Ca binding protein합성을 억제하여 Ca흡수를 감소시킨다는 보고들이[9)-12)]이 있고, Cd중독시 신장기능장애로 인해 체외로의 Ca배설량이 증가되고 이는 bone resorption을 더욱 증가시켜 osteoporosis나 osteomalacia를 유발하게 된다고 한다[13)14)16)17)]. 실제 이러한 증세는 Itai-Itai환자들에게서 심하게 나타났었다고 한다. Itokawa도[49)] 흰쥐에서 Cd에 의한 대퇴골 형태 변화를 관찰했고, 저칼슘식이와 저단백질식이 공급시 Cd의 뼈에 대한 독성효과는 더욱증가한다고 했다. 본 연구결과에서도 뼈에 미치는 Cd의 영향이 식이 단백질 수준에 따라 변화되었는데,

Table 5. Hematocrit value and hemoglobin content of experimental rats

Exp. groups	Hematocrit(%)	Hemoglobin(g/100mℓ)
LO	41.08± 4.19[1)ab2)]	9.94± 1.83[N.S4)]
LCd	27.89± 4.01[a]	9.15± 0.78
SO	43.41± 1.61[a]	11.90± 0.56
SCd	31.92± 2.24[ab]	9.86± 0.44
HO	40.70± 1.76[ab]	10.70± 0.76
HCd	27.18± 2.31[b]	8.26± 0.92
signficant factor[3)]	B	B

1) Mean± S.E
2) Values with same alphabet within the colum are not signficantly different at α=0.05 level by Scheffé test.
3) B : Effect of Cd administration is signficant at α=0.05 level by F test.
4) Not signficant at α=0.05 levle by Scheffé test.

HCd군이 LCd군과 SCd군에 비해 회분 및 Ca함량이 높았던 것으로 보아 Table 8에 나타난것처럼 식이 단백질 수준의 증가에 따라 Cd흡수 및 보유율이 감소됨으로써 체내 Ca대사에 대한 Cd의 방해효과가 다소 완화되었을것으로 생각된다.

Hemoglobin과 hematocrit값을 Table 5에서와 같이 Cd공급시 모두 감소되는 경향을 보였으나, 식이 단백질 수준에 따른 차이는 나타나지 않았다. Cd 공급시 혈장의 transferrin수준과 TIBC(Total Iron Binding Capacity)가 감소되고 RBC크기 및 hemoglobin농도의 감소로 hypochromic microcytic anemia가 유발되었으며, 체내 Fe 보유량도 감소되었다는 보고들이[6)-8)31)47)] 있으며, Fox는[7)8)] Cd섭취로 인한 Fe 결핍상태가 Vitamin C와 Fe를 보충한 고단백질식이 공급으로 완화되었고, Cd중독으로 인한 전반적인 영양불량상태가 간접적인 Fe결핍을 유발할 수 있다고 강조하였다. 따라서 본 실험에서 Cd공급군에서의 hemoglobin과 hematocrit감소도 Cd중독으로 인한 영양불량이 주요 원인일 것으로 생각된다.

한편, Table 6에서 보듯이 Cd공급으로 뇨와 변을 통한 질소배설량이 감소되었고, 저단백질식이 공급군들에서 낮았는데 이는 저단백질군들이 다른군들에 비해 체중이 적었고 질소섭취량도 적었기 때문으로 생각된다. 체내 질소흡수율은 Cd공급군에서 대체로 낮았으나 저단백질군에서만 LCd군이 LO군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 이와같은 Cd공급에 의한 질소흡수율 감소는 Cd이 장내단백질 소화효소의 활성을 억제시킴으로써 소화되지 못한 oligopeptides가 증가되고, 이것이 직접 Cd과 결합하여 배설됨으로써 단백질의 소화흡수가 감소된다는 것과[18)50)51)] 관련이 있을 것으로 생각되나 자세한 기전은 알 수 없다. 혈청 및 간의 단백질함량(Table 6)도 Cd공급시 감소되는 경향을 보였는데, 이는 Cd공급군들의 식이섭취량과 질소흡수율의 감소등으로 체내 단백질대사에 변화가 있었기 때문으로 생각된다.

혈액, 간, 신장 및 뼈(대퇴골)의 Cd함량은 Table 7에서 보듯이 Cd공급시 유의적으로 높았으며, 식이 단백질 수준이 높을수록 낮게 나타났다. 특히, Cd공급군들의 신장내 Cd함량은 표준단백질군과 고단백질군이 저단백질군에 비해 유의적으로 감소되었

Table 6. Total protein contents in serum and liver, urinary and fecal nitrogen excretions, and nitrogen absorption ratio of experimental rats

Exp. groups	serum(㎎/100㎖)	Liver	
		(㎎/g wet liver)	(㎎/total liver)
LO	7.68± 0.26[1)b2)]	194.60± 15.60[ab]	733.52± 88.13[b]
LCd	6.78± 0.15[b]	160.11± 11.17[b]	397.87± 71.77[b]
SO	8.91± 0.21[a]	226.61± 18.90[a]	1276.56± 178.39[a]
SCd	8.08± 0.26[a]	205.64± 10.78[b]	641.00± 71.19[b]
HO	9.20± 0.21[a]	261.83± 18.60[a]	1728.87± 118.85[a]
HCd	8.22± 0.25[a]	235.75± 11.86[b]	964.85± 88.95[b]
signficant factor[3)]	A,B	A	A,B

Exp. groups	Urinary N(㎎/day)	Fecal N(㎎/day)	N absorption ratio(%)
LO	33.95± 7.05[1)b2)]	20.28± 2.67[c]	84.70± 2.45[b]
LCd	30.80± 6.95[b]	15.68± 0.63[c]	80.30± 1.72[c]
SO	361.20± 22.96[a]	35.58± 2.58[ab]	89.05± 0.52[b]
SCd	60.90± 18.72[b]	26.15± 1.83[bc]	87.10± 1.17[b]
HO	499.25± 37.35[a]	49.63± 1.29[a]	95.05± 0.29[a]
HCd	338.30± 30.60[a]	39.98± 10.74[a]	93.48± 1.42[a]
signficant factor[3)]	A,B	A	A,B

1) Mean± S.E
2) Values with same alphabet within the colum are not signficantly different at $\alpha=0.05$ level by Scheffé test.
3) A : Effect of dietary protein is significant at $\alpha=0.05$ level by F test.
B : Effect of Cd administration is signficant at $\alpha=0.05$ level by F test.

다. Cd은 조직내에서 MT합성을 유도하고, Cd은 이 단백질과 결합하여 CdMT 복합체의 형태로 조직내에 축적되거나 신장을 통해 배설되기도 한다[22)-26)37)-46)]. 또한 장기간 Cd에 노출될 경우 신장조직내 CdMT 농도가 증가되고, CdMT로부터 toxic free Cd의 방출이 증가되어 세포내 여러효소의 작용을 방해하고 증가된 CdMT자체가 세포막을 손상시킴으로써 신장기능장애를 유발한다고 한다[20)21)38)48)].

한편, 본 연구결과 조직내 Cd축적이 식이 단백질 수준을 증가시킴으로써 감소되는 것을 볼 수 있었고, 이는 고단백질식이 공급시 간과 신장조직의 Cd축적이 감소되었다는 여러보고들과도[18)-19)20)-24)] 일치하는 것이었다. 단백질 섭취의 증가에 따른 조직내 Cd축적의 감소는 뇨와 변을 통한 Cd배설이 고단백질군에서 가장 높았고, 체내 Cd흡수율과 보유율이 단백질 섭취의 증가에 따라 감소되었던 본 실험결과(Table 8)로써 설명될 수 있다. 그리고 변을 통한 Cd배설이 고단백질군에서 유의적으로 증가된 것으로 보아 단백질에 의한 장내 Cd흡수억제효과도 생각해볼 수 있겠다. 단백질에 의한 Cd흡수억제효과에 대한 정확한 기전은 알려져 있지 않은데, 앞서 언급한대로 Cd에 의해 소화되지 못한 단백질 분해물질(oligopeptides)이 Cd과 결합된채 체외로 배설되거나[18)], 장세포에서 합성된 MT가 Cd과 결합하고 있다가 장세포 교체시 함께 배설됨으로써 Cd흡수를 억제시켜 준다는 보고가[27)] 이를 뒷받침해주고 있다. 그

Table 7. Cd contents in blood, liver, kidney and bone of experimental rats

Exp. groups	Blood (μg/100mℓ)	Liver (μg/g wet liver)	Kidney (μg/g wet kidney)	Femur (μg/g wet fumur)
LO	9.00± 0.00[1)b2)]	2.95± 1.21[b]	3.63± 0.66[c]	0.43± 0.17[b]
LCd	185.00± 5.00[a]	32.50± 6.40[a]	39.67± 3.29[a]	14.77± 5.13[a]
SO	7.75± 0.48[b]	2.02± 0.50[b]	3.45± 0.42[c]	0.43± 0.19[b]
SCd	170.67± 1.67[a]	26.72± 7.18[a]	27.39± 2.65[b]	4.18± 2.04[ab]
HO	8.00± 0.85[b]	1.68± 0.36[b]	1.80± 0.45[c]	0.69± 0.40[b]
HCd	158.33± 4.37[a]	25.93± 5.22[a]	30.42± 2.87[b]	3.99± 0.79[ab]
signficant factor[3)]	A,B,AB	A,B,AB	A,B,AB	B

1) Mean± S.E
2) Values with same alphabet within the colum are not signficantly different at $\alpha=0.05$ level by Scheffé test.
3) A : Effect of dietary protein is significant at $\alpha=0.05$ level by F test.
B : Effect of Cd administration is signficant at $\alpha=0.05$ level by F test.
AB : Effect of interaction between dietary protein and Cd is signficant at $\alpha=0.05$ level by F test.

Table 8. Urinary and fecal Cd excretions, and Cd absorption ratio and, Cd retention ratio

Exp. groups	Urinary Cd(μg/day)	Fecal Cd(μg/day)	Absorption ratio(%)	Retentio ratio(%)
LO	0.88± 0.14[1)b2)]	25.00± 5.00[c]	—	—
LCd	8.75± 2.39[ab]	262.50± 15.47[b]	73.8± 15.5*	72.9± 15.7*
SO	0.50± 0.14[b]	17.50± 4.79[c]	—	—
SCd	7.50± 1.44[ab]	715.00± 25.50[b]	42.5± 17.9	41.8± 17.9
HO	1.38± 0.24[b]	27.50± 11.80[c]	—	—
HCd	15.00± 7.26[a]	1000.00± 127.21[a]	19.5± 5.92	17.5± 5.8
signficant[3)] factor	B	B	·	·

1) Mean± S.E
2) Values with same alphabet within the colum are not signficantly different at $\alpha=0.05$ level by Scheffé test.
3) B : Effect of Cd administration is signficant at $\alpha=0.05$ level by F test.
* Means could not be statistically compared due to lack of data from Cd non-added groups.

리고, MT는 간에서 신장으로 Cd을 이동시켜 Cd배설을 촉진시키기 때문에[27)28)] 고단백질식이 공급시 뇨를 통한 Cd배설이 증가될 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 본 실험결과를 통해 식이 단백질수준이 Cd의 흡수, 분포, 배설에 영향을 미침을 알 수 있었다.

결 론

이상으로 Cd공급시 식이섭취량의 감소등으로 동물의 성장이 부진하였으며, 체내 질소흡수율과 단

백질효율의 저하, 혈청 및 간내 단백질함량의 감소등 체내 단백질 대사에 영향을 주었다. 그러나 이러한 Cd중독의 영향은 식이 단백질 수준이 높을수록 완화되고, 이는 단백질에 의한 Cd흡수 억제 및 뇨를 통한 Cd배설의 증가로 인해 체내 Cd보유율이 감소되어 조직내 Cd함량이 감소되었기 때문으로 생각된다. 한편, Cd중독과 metallothionein의 역할에 대한 관심이 크게 대두되고 있으나 실제 단백질 섭취의 증가가 MT합성에 영향을 미침으로써 Cd중독 효과를 감소시키는지에 대해서는 본 실험에서는 정확히 알 수 없었으며, 앞으로 이에 대한 연구가 더 필요하다고 생각된다.

References

1) Friberg L, Piscator M. *Cadmium in the environment. 2nd ed CRC Press Cleveland in Ohio. 1974*
2) Page AL, Chang AC. *Cadmium Springer-Verlag Berlin Heidelberg Germany. p33-75, 1986*
3) Bremner I. *Cadmium toxicity-Nutritional influence and the role of metallothionein. World Rev Nutr Diet 32 : 165, 1978*
4) Slobodan Jugo. *Metabolism of toxic heavy metals in growing organism. Environ Research 13 : 36, 1977*
5) Kostial K, Simonoric I. *Lead absorption from the intestine in newborn rats. Nature 233 : 564, 1971 a*
6) Hamilton DL, Valverg LS. *Relationship between Cd and Fe absorption. Am J Physiol 227(5) : 1033, 1974*
7) Fox MRS, Jacbes RM. *Changes in plasma protein associated with the anemia produced by dietary Cd in Japanes quail. J Nutr 99 : 119, 1969*
8) Fox MRS. *Effect of vitamin C and Fe on Cd metabolism. Ann NY Acad Sci 355 : 249, 1980*
9) Shimizu M. .*The inhibition of vitamin D-stimulated intestinal Ca transport in rats after continuous oral administration of Cd. Toxicol Appl Pharmacol 61 : 297, 1981*
10) Ando M, Sayato Y. *Studies of the disposition of Ca in bones of rats after continuous oral administration of Cd. Toxicol Appl Pharmacol 61 : 297, 1981*
11) Fullmer CS, Oku T. *Effects of Cd administration on intestinal Ca absorption and vitamin D dependent Ca binding protein. Environ Research 22 : 386, 1980*
12) Feldman SL, Cousin RJ. *Influence of Cd on the metabolism of 25-hydroxicholecalciferol in Chicks. Nutr Rep Int 8 : 251, 1975*
13) Hamilton DL, Smith MW. *Inhibition of intestinal Ca uptake by Cd and the effects of a low Ca diet on Cd retention. Environ Research 25 : 175, 1978*
14) Philip W, Wasak M. *Role of dietary Ca and Ca binding protein in Cd toxicity. J Nutr 107 : 920, 1977*
15) Bernard AL, Foulkes EC. Cadmium. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg Germany p75-97, 1986*
16) Koo SI. *Intestinal absorption and retention of cadmium : effects of cholecalciferol, Ca status and other variables. J Nutr 128 : 1812, 1978*
17) Hamilton DL, Smith MW. *Cadmium inhibits Ca absorption by rat intestine. J Physiol 265 : 54p, 1977*
18) Kojima S. *Effects of three proteins on absorption of Cd in rats. Toxicology 34 : 161, 1985*
19) Nordberg GF, Piscator M. *Influence of long term Cd exposure on urinary excretion of protein and Cd in mice. Environ Physiol Biochem 2 : 37, 1972*
20) Coleman JE, Vallee BL. *Metallocarboxypeptidase stability constants and enzymatic characteristics. J Biol Chem 236 : 2244, 1961*
21) Parizek J. *The destructive effect of Cd ion on testicular tissue and its preventaiton by zinc. J Endocrinology 15 : 56, 1957*
22) Muto Y, Omori M. *Nutritional influence on the onset of renal damage due to long term adminstration of Cd in young and adult rats. J Nutr Sci Vitaminol 23 : 349, 1977*
23) Gontezea I, Popescu F. *The effects of body protein supply on resistance to Cd. Br J Ind Med 35 : 154, 1978*

24) Omori M, Muto Y. *Effects of dietary protein, Ca, P, fiber on renal accumulation of exogenous Cd in young rats. J Nutr Sci Vitaminol 23 : 361, 1978*
25) Revis NW, Osborne TR. *Dietary protein effects on Cd and metallothionein accumulation in the liver and kidney of rats. Envioron Health Perspect 54 : 83, 1984*
26) Revis NW. *The relationship of dietary protein to metallothionein and Cd induced renal damage. Toxicology 20 : 323, 1980*
27) Kotsonis FN, Klassen CD. *The relationship of metallothionein to the toxicity of Cd after prolonged oral administration of rats. Toxicol Appl Pharmacol 46 : 39, 1978*
28) Cherian MG, Nordberg M. *Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. Toxicology 28 : 1, 1983*
29) Fox MRS. *Effects of essential minerals on Cd toxicity. J Food Sci 39 : 321, 1974*
30) Murakami M, Cain K, Webb M. *Cd-metallothionein induced nephropathy : a morphological and autoradiographical study of Cd distribution, the development of tubular damage and subsequent cell regeneration. J Appl Toxicol 5 : 237, 1983a*
31) Valverg LS, Sorbe DL, Hamilton DL. *Gastrointestinal metabolism of Cd experimental iron deficiency. Am J Physiol 231 : 461, 1976*
32) Schroeder HA, Vinton WH. *Hypertention induced in rats by small doses of Cd. Am J Physiol 202 : 515, 1962*
33) Lewis GD. *Cd accumulation in man : influence of smoking, occupation, alcholic habits and disease. J Chron Dis 25 : 717, 1972*
34) Mahaffey KR. *Nutritional factors in lead poisoning. Nutr Rev 39(10) : 353, 1981*
35) Mahaffey KR, Goyer RA. *Experimental enhencement of lead toxicity by low dietary Ca. J Lab Clin Med 76 : 933, 1970*
36) Qoarterman J, Morrison JN. *Effects of dietary Ca, P on the retention and excretion of lead in rats. Br J Nutr 34 : 351, 1975*
37) Roles H, Lauwery R. *In vivo measurment of liver and kidney Cd in workers exposed to this metal. Environ Research 26 : 217, 1981a*
38) Kjellstron T, Elinder CG. *Conceptual problems in establishing the critical concentration of Cd in human kidney cortex. Environ Research 33 : 284, 1984*
39) Chang CC, Lauwery R, Bernard A. *Metallothionein in Cd exposed workers. Environ Research 23 : 422, 1980*
40) Phillpotts CJ. *Retention Cd in duodenum of the rat following oral administration. Toxicology 14 : 245, 1980*
41) Nordberg GF, Fowler BA. *Factors in fluencing metabolism and toxicity of metals. Environ Health Perspect 25 : 31, 1978*
42) Ando M, Sayato Y. *Studies on excretion and uptake of Ca by rats after continuous oral administration of Cd. Toxicol Appl Pharmacol 39 : 321, 1977*
43) Tohyama C, Shaikh ZA. *Elevated urinary excretion of metallothionein due to environmental Cd exposure. Toxicology 20 : 289, 1981*
44) Schafer SG, Forth W. *Excretion of metals into the rats intestine. Biol Trace Element Res 5 : 205, 1983*
45) Tohyama C, Schikh ZA. *Urinary metallothionein as a new index of renal dysfunction. Toxicology 50 : 159, 1982*
46) The American Institute of Nutrition. *J Nutr 107 : 1340, 1977*
47) Pond WG, Walker EF. *Cd induced anemia in growing rats : prevention by oral or parentral iron. Nutr Rept Inter 5 : 365, 1972*
48) Stowe HD, Wilson M. *Clinical and morphological effects of oral Cd toxicity in rabbits. Arch Pathol 94 : 389, 1972*
49) Itokawa Y, Abe T. *Bone changes in experimental chronic Cd poisoning. Arch Environ Research 26*

: *241, 1973*

50) Kojima S, Kiyozumi M. *Studies on poisonous metals : VI. Effects of food components on transport of Cd across rat small intestine in vitro. J Food Hyg Sci 19 : 553, 1978*

51) Kojima S, Kiyozumi M. *Studies on poisonous metals : VII. Effects of protein and amino acids on the small intestinal absorption of Cd on rats. Eisei Kagaku 25 : 245, 1979*

52) Cooper TG. *The tools of biochemistry. John Wiley & Sons 1977*

53) Zinterhofer LJM, Jatlow I, Fappiano A. *Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. J Lab Clin med 78 : 664, 1971*

54) Yeager DW, Cholak J, Henderson EW. *Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometry. Envioron Sci Technol 5 : 1020, 1971*

55) Hawk PB, Osler BL, Summerson WH. *Practical physioloical chemistry. Mc Grow-HIll New York p1219-1220, 1965*