

인삼사포닌이 카드뮴의 면역독성에 미치는 영향

류희영 · 김영규 · 정문호

서울대학교 보건대학원

The Effect of Ginseng-Saponin on Cd-Induced

Heui Young Ryu, Young Gyu Kim and Moon Ho Chung

Graduate School of Public Health, Seoul National University

ABSTRACT

The purpose of this study is to investigate the effects of Ginseng saponin on the cadmium which is widely distributed in the environment, results in immune system alteration. For the experiments, 125 mice of ICR strain were used. The experimental groups were divided into 5 groups; a control, a cadmium alone treatment group, three Cd and saponin (10, 50, 100 mg/kg) combined treatment groups. The mice were allocated 25 to each group and observed for 8 weeks.

The results of experiment are as follows:

1. Body weight growth rates during 8 weeks were as this; control group 36.47%, Cd alone group 32.48%, saponin combined treatment group (10, 50, 100 mg/kg) 32.49%, 39.17%, 24.27% respectively.
2. In all groups, the relative weights of liver and kidney were increased, compared with control group. In the case of spleen, saponin combined treatment group (50, 100 mg/kg) was high to the significant level compared with a control group ($p < 0.05$). Thymus was not.
3. On blood lymphocyte count observation, Cd alone treatment group has 25.6% less than control group, and saponin combined treatment group have increasing trends. but in thymus and spleen, there was no trends like blood.
4. On antibody titer, there was no difference among groups.
5. On total serum protein, saponin (100 mg/kg) combined treatment group was high to significant level compared with control group ($p < 0.05$), and other treatment groups have increasing trends.
6. Cd accumulation in kidney was higher than in liver, and all treatment groups were high to the very significant level compared with the control group ($p < 0.05$), but there was no difference among groups.

From the results of this study, it can be concluded that the oral administration of Cd results in alteration of immune system and Ginseng saponin prevents this effect. But, Cd accumulation was not affected by saponin.

Keywords : Cadmium, saponin, immune system, mouse.

I. 서 론

현대사회의 급속한 산업화의 결과로 각종 오염물질이 다량 배출됨에 따라 발생하는 환경오염 문제가 심각하게 대두되고 있다. 특히, 중금속에 의한 환경오염은 대기, 수질, 토양을 통하여 인간과 동물, 식물을 포함한 생태계에 피해를 주기 때문에 보건학적으로 대단히 중요시된다.^{1,2)}

카드뮴은 영양학적으로 비필수금속이며, 생태계에 낮은 농도로 존재하나, 생체내의 반감기가 16~30년 정도로 길어 축적시에 문제가 된다.^{3,4)}

카드뮴은 대기, 토양, 물 및 식품에 다양한 양으로 존재하며, 산업장에서는 합금, 전기도금, 납땀, 충전지, 염료 등으로 사용되며, 이러한 직업적 폭로를 제외하면 일반인에 대한 폭로는 주로 식품을 통한 경우이다.^{3,5,6)} 한국인의 1일 카드뮴 섭취 추정량은

70.53 μg 정도이며,⁷⁾ 소화기관으로 흡수되는 카드뮴의 농도는 낮아서 사람이 카드뮴에 오염된 식품을 섭취했을 때, 카드뮴의 흡수율은 3~8% 정도이다.^{5,6,8)} 보통 성인은 일생동안 30 mg이 축적되는데, 1/3이 신장에 축적된다.⁹⁾

카드뮴은 생쥐의 경우 LD₅₀이 225 mg/kg으로 알려져 있으며,⁹⁾ 인간과 동물에게 나타나는 독성작용은 고혈압¹⁰⁾, 신장기능저하¹¹⁾, 고혈압¹²⁾, 간기능손상¹³⁾, 중추신경계손상¹⁴⁾, 빈혈증, 면역기능저하¹⁵⁾ 등이다. 카드뮴에 만성폭로시 간과 신장에 주로 폭로되며, 무독화와 이동, 저장에 저분자량 단백질인 Metallothionein이 관여한다고 알려져 있다.¹⁶⁾

카드뮴이 면역체계에 영향을 준다는 보고는 1973년 Koller 이후로 계속 연구되어지고 있으며, 카드뮴에 폭로되면, 면역기능이 상승^{17,18)}, 억제^{19,20)}, 또는 무변화²¹⁾가 일어나기도 하는데, 이는 종간의 차이, 투여량, 투여경로, 항원과 관련된 카드뮴의 폭로시간에 영향을 받게 된다. 비록 카드뮴에 의한 면역병리기전이 알려져 있지 않더라도 카드뮴은 일반적으로 면역억제물질이다. Koller(1975)는 생쥐에 카드뮴을 10주 투여시 T, B 임파구의 기능이 억제되고, 항체합성 특히 IgG⁻이 저하되었다고 보고하였으며, Motoyasu²²⁾는 카드뮴을 0, 5, 1 mg/kg으로 5일 동안 투여했을 때, 임파구의 증식을 감소시킨다고 보고하였다. 그 외에도 카드뮴을 90일간 투여했을 때, PFC의 감소, 대식세포의 기능증가, HSV-2 바이러스에 대한 기주저항성 감소, 자연살해세포의 기능증가²³⁾ 등의 작용을 한다고 알려져 있다.

인삼은 동양에서 가장 널리 쓰이는 자연 강장제로서, Carrigue가 북미산 인삼(*Panax quinquefolium* L.) 뿌리에서 Panaquilon이라는 사포닌성분을 이래로, 인삼에 대한 화학적, 생화학적 연구와 더불어 약리적, 생리적 효능에 대한 폭넓은 연구가 계속되었다.²⁴⁾

Brekman²⁵⁾이 인삼이 개체의 비특이적 저항성을 증대시키는 효과가 있다고 보고한 이후 인삼의 방어효과에 대한 연구들이 활발해지고 있다. Fabio²⁶⁾는 인삼추출물이 유의성있는 면역촉진작용을 나타낸다고 보고하였는데, 면역기능에 관련된 논문을 보면, Singh²⁷⁾는 인삼투여로 세포의 항체생성은 증가되었고, Semliki Forest Virus(SFU) 항원에 대한 면역성이 높아지며, 자연살해세포의 활성도가 크게 증진된다고 보고 있다.²⁸⁾

또한, 인삼추출물이 예방적 항염반응(prophylactic anti-inflammatory action)을 나타낸다는 보고가 있고²⁹⁾ 인삼이 혈청 단백질의 생합성을 자극시키며,

혈청내의 Albumin, γ -globulin의 증가를 나타낸다는 보고가 있다.³⁰⁻³²⁾

본 실험은 면역체계에 영향을 미치는 카드뮴에 인삼사포닌이 어떠한 작용을 하는지, 사포닌의 농도를 달리하여 카드뮴과 동시에 구강투여를 한 후, 체중의 변화, 장기의 상대적 중량, 임파구 수와 항체역가, 혈청 단백질량, 카드뮴의 장기 축적량을 측정함으로써, 카드뮴의 면역체계에 미치는 영향에 대한 인삼사포닌의 효과를 알아보는데 그 목적이 있다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

(1) 실험동물

실험동물은 생후 3~4주된 ICR계 웅성 mouse를 분양받아, 자연조건에서 1주간 적응시킨 후, 몸무게가 20.50 ± 2.58 g 되었을 때 실험에 사용하였다.

(2) 사용한 시약

Saponin(인삼연초연구소)

Cadmium chloride($\text{CdCl}_2 \cdot 2/2 \text{H}_2\text{O}$)

Ficoll(Pharmacia)

Bovine serum albumin, P-npp, Alkaline phosphatase conjugated goat anti mouse IgG 등은 Sigma사 시약을 사용하였다.

2. 방 법

실험동물은 5군으로 나누었고, 한 군당 25마리로 하여 두 개의 polycarbonate cage에 나누어 사육하였다. 총 실험기간은 8주였으며, 카드뮴 투여기간은 4주였고, 사포닌은 카드뮴 투여 1주 전부터 투여하였다. 투여방법은 oral sonde를 이용하여 경구투여했으며, 투여농도는 Table 1과 같다. 카드뮴 투여량은 마우스의 경우 LD₅₀이 225 mg/kg인 것과 투여기간을 고려하여 계산한 값이며, 적정 사포닌 투

Table 1. Experimental groups treated with cadmium and saponin

| Group | Treatment (mg/kg) | |
|---------|-------------------|---------|
| | Cd | Saponin |
| Control | -- | -- |
| G 1 | 1.0 | -- |
| G 2 | 1.0 | 10 |
| G 3 | 1.0 | 50 |
| G 4 | 1.0 | 100 |

여량은 박³¹⁾, 김³²⁾의 연구결과에서 비롯되었다. 카드뮴 투여 중지 0일째 BSA 1 mg/ml로 PBS에 녹여, 피하주사를 했다. 이 기간 중 사료와 음료수는 자유로이 섭취하게 했다.

3. 분석방법

(1) 체중 및 장기 중량 측정

체중은 매주 1회 측정하였으며, 카드뮴 투여 0, 2, 4주에 각 군에서 7마리씩 희생시켜 간장, 신장, 비장, 흉선을 적출하여 체중 g당 상대 백분율을 구하였다.

(2) 채혈 및 장기분리

0, 2, 4주 실험군에서는 혈액 채취를 위해 12시간 절식시킨 후, diethyl ether로 마취시켜, 후대정맥에서 채혈하였다. 장기는 흉선과 비장을 적출하여 임파구 세포 관찰에 즉시 사용하였고, 간과 신장은 식염수로 세척한 후 여과지에 물기를 제거한 후, -20℃ 냉동실에 보관하였다. 8주째 실험군은 마취 후 채혈하여 1500 rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 -20℃에 보관하고, ELISA와 단백질 정량을 위해 사용하였다.

(3) 임파수 세포 관찰

혈액은 Ficoll³³⁾을 이용한 밀도차 원심침전법으로 단핵구층을 분리했고, 비장과 흉선은 Slide glass를 이용하여 잘게 으개어 세포를 얻은 후, Hemocytometer로 세포수를 셸다.

(4) 항체역가 측정

Microplate에 BSA를 coating하고, 4℃에 배양시킨 후, 혈청을 넣고 2시간 배양하고, alkaline phosphatase-conjugated goat anti mouse IgG를 넣고, 기질인 p-NPP를 넣은 다음, 3 N NaOH로 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정했다.

(5) 혈청 단백질 정량

BCA(Bicinchoninic acid) 단백질 정량법을 이용하였는데, 단백질이 Cu(II)를 Cu(I)로 환원시키는 성질에 기초하여, Cu(I)과 특이적으로 반응하는 BCA를 사용하여, 562 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(6) 장기 중 카드뮴 축적량 분석

간장과 신장을 질산-황산으로 분해를 하고, DDTC-MIBK로 추출하여 원자흡광 광도계(Atomic Absorption Spectrometer, Varian)로 카드뮴의 양을 측정했다. 측정파장은 228.8 nm였다.

(7) 통계처리

모든 실험항목의 유의성을 검증하기 위해, 그룹에 따른 유의성 검증은 ANOVA와 Duncan test를 하였다. 또한 실험기간에 따른 유의성 검증은 ANOVA

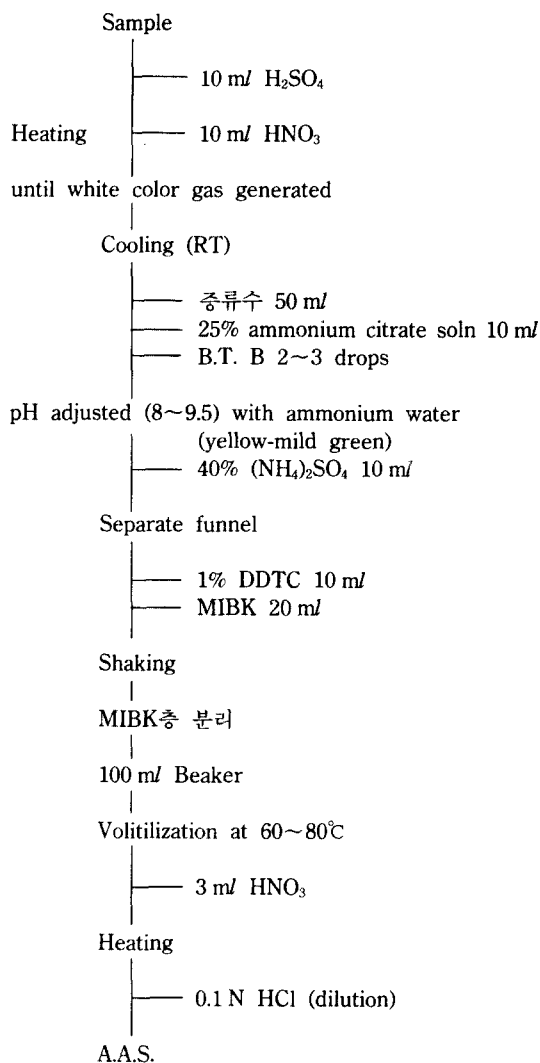


Fig. 1. Analytical procedure of the contents of cadmium in liver and kidney of Mice.

또는 T-test를 이용하였다.

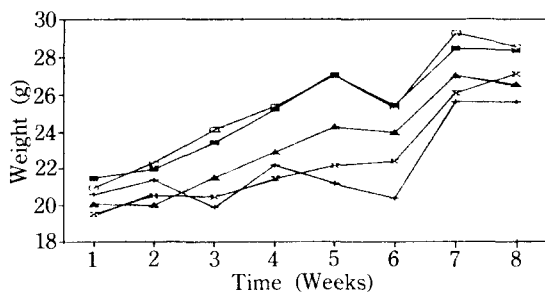
III. 결과 및 고찰

1. 체중변화와 장기의 상대 중량

카드뮴 1 mg/kg을 투여한 군과 카드뮴에 사포닌 10, 50, 100 mg/kg을 각각 혼합 투여한 군과 대조군의 8주간 체중변화는 Table 2, Fig. 2와 같다. 모든 실험군이 2주째는 매우 적은 체중 증가를 나타냈고, 5주째에는 그룹간의 차이가 났으나, 카드뮴 폭포를 중지한 6주 이후에는 그룹간의 차이가 적었다.

Table 2. Body weight changes of mice orally administrated Cd with saponin

| Weeks | Treatment (mg/kg) | | | | |
|-------|-------------------------|------------|--------------|--------------|---------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 1 | 20.92±2.14 ^a | 21.44±2.35 | 20.04±2.28 | 19.48±2.66 | 20.60±3.48 |
| 2 | 22.24±2.05 | 21.92±2.99 | 20.00±3.80 | 20.50±3.24 | 21.33±3.34 |
| 3 | 24.12±3.70 | 23.42±3.94 | 21.48±3.11 | 20.42±2.89 | 19.88±2.83 |
| 4 | 25.36±4.70 | 25.21±4.12 | 22.88±3.18 | 21.43±2.81 | 22.15±2.87 |
| 5 | 27.00±3.40 | 27.06±4.54 | 24.28±2.65 | 22.12±3.04 | 21.15±2.34 |
| 6 | 25.32±3.42 | 25.44±4.19 | 23.94±3.23 | 22.38±2.63 | 20.36±1.75 |
| 7 | 29.25±2.86 | 28.45±4.34 | 27.00±2.95 | 26.11±4.40 | 25.60±1.95 |
| 8 | 28.55±2.88 | 28.36±3.44 | 26.55±4.39 | 27.11±3.72 | 25.60±0.55 |

^aMean±S.D.**Fig. 2.** Body weight changes of mice orally administrated Cd with saponin.

□-□ Control, ■-■ Cd, ▲-▲ Cd/Sap. (10 mg/kg), △-△ Cd/Sap. (50 mg/kg), +-+ Cd/Sap. (100 mg/kg).

각 그룹간의 8주간 체중 증가율은 대조군이 36.47%, 카드뮴군이 32.28%, 카드뮴과 사포닌 10, 50, 100 mg/kg, 혼합 투여군이 각각 32.49, 39.17, 24.27%로 나타났다. 또한, 치사율이 카드뮴군은 4%, 카드뮴과 사포닌 50 mg/kg 혼합투여군은 8%, 사포닌 100 mg/kg 혼합 투여군은 24%로 나타났는데, 이는 사포닌 100 mg/kg 혼합 투여군의 경우 다른 실험군에 비해 체중 증가율이 감소한 현상과 일치됨이 있다. 이는 사포닌 독성에 의한 결과라고 생각되지는 않

으나 앞으로 더 연구해 보아야 할 과제이다.

카드뮴을 경구투여한 후, 체중 증가량의 변화에 대한 결과를 보면 Bogman은 카드뮴 투여시 대조군에 비해 몸무게가 유의하게 감소한다고 하고, Thomas³³, Ohsawa, Chowdhury은 각 그룹간에 유의한 몸무게 차이를 보이지 않는다고 보고하였다. 이는 투여한 카드뮴의 농도와 실험기간, 종간 특이성에서 야기되는 다양성이라고 생각된다.

카드뮴 단독 투여군과 사포닌 혼합 투여군의 체중에 대한 장기 백분율은 Table 3~6과 Fig. 3~6과 같다. 간장은 2주째는 대조군에 비해 실험군의 수치가 다소 낮았고, 사포닌 50 mg/kg 혼합 투여군의 경우는 대조군에 비해 유의하게 낮았다($p<0.05$).

4주째의 경우는 실험군이 대조군에 비해 증가했으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 신장은 2주째에는 모든 실험군이 대조군에 비해 유의하게 감소했으며($p<0.05$), 4주째에는 대조군에 비해 실험군이 증가했고, 사포닌 50 mg/kg과 100 mg/kg 혼합 투여군은 유의하게 증가했다($p<0.05$).

비장의 경우는 2주째에 카드뮴 단독 투여군이 사포닌 50, 100 mg/kg 혼합 투여군에 비해 유의하게 감소했고($p<0.05$), 4주째에는 사포닌 50, 100 mg/kg 혼합 투여군이 대조군에 비해 유의하게 증가했고

Table 3. Relative liver weights of mice orally administrated Cd with saponin

(unit: % of Body weight)

| Weeks | Treatment (mg/kg) | | | | |
|-------|------------------------|-----------|--------------|------------------------|---------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 0 | 5.87±0.55 ^a | | | | |
| 2 | 6.24±0.65 | 5.57±0.56 | 5.09±1.54 | 4.84±2.93 ^b | 5.10±0.56 |
| 4 | 4.11±0.51 | 4.70±1.03 | 4.44±0.24 | 4.43±0.19 | 4.82±0.37 |

^aMean±S.D.^bDifference from control ($p<0.05$)

Table 4. Relative kidney weights of mice orally administrated Cd with saponin

(unit : % of Body weight)

| Weeks | Treatment (mg/kg) | | | | |
|-------|--------------------------|-------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 0 | 1.29 ± 0.16 ^a | | | | |
| 2 | 1.94 ± 0.42 | 1.68 ± 0.18 | 1.34 ± 0.14 ^{b,c} | 1.43 ± 0.19 ^b | 1.28 ± 0.17 ^{b,c} |
| 4 | 1.22 ± 0.12 | 1.33 ± 0.15 | 1.38 ± 0.14 | 1.40 ± 0.09 ^b | 1.47 ± 1.00 ^b |

^aMean ± S.D.^bDifference from control (p<0.05)^cDifference from Cd (p<0.05)**Table 5.** Relative spleen weights of mice orally administrated Cd with saponin

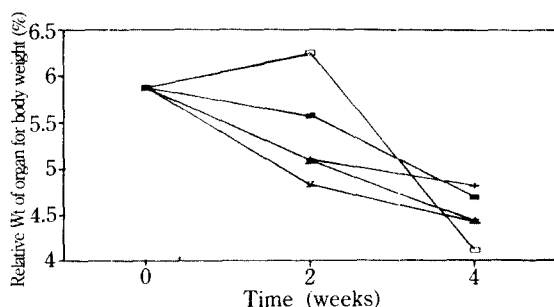
(unit : % of Body weight)

| Weeks | Treatment (mg/kg) | | | | |
|-------|--------------------------|-------------|--------------|--------------------------|--------------------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 0 | 0.40 ± 0.04 ^a | | | | |
| 2 | 0.34 ± 0.09 | 0.28 ± 0.06 | 0.34 ± 0.06 | 0.45 ± 0.06 ^c | 0.45 ± 0.12 ^c |
| 4 | 0.35 ± 0.07 | 0.38 ± 0.11 | 0.39 ± 0.05 | 0.48 ± 0.03 ^b | 0.50 ± 0.14 ^b |

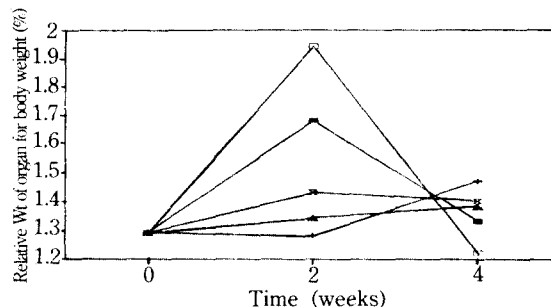
^aMean ± S.D.^bDifference from control (p<0.05)^cDifference from Cd (p<0.05)**Table 6.** Relative thymus weights of mice orally administrated Cd with saponin

(unit : % of Body weight)

| Weeks | Treatment (mg/kg) | | | | |
|-------|--------------------------|-------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 0 | 0.32 ± 0.04 ^a | | | | |
| 2 | 0.12 ± 0.01 | 0.15 ± 0.04 | 0.37 ± 0.06 ^{b,c} | 0.41 ± 0.04 ^{b,c} | 0.34 ± 0.06 ^{b,c} |
| 4 | 0.22 ± 0.03 | 0.22 ± 0.08 | 0.13 ± 0.03 | 0.23 ± 0.02 | 0.26 ± 0.05 |

^aMean ± S.D.^bDifference from control (p<0.05)^cDifference from Cd (p<0.05)**Fig. 3.** Relative kidney weights of mice orally administrated Cd with saponin.

□—□ Control, ■—■ Cadmium (1 mg/kg), ▲—▲ Cd + Sa (10 mg/kg), △—△ Cd + Sa (50 mg/kg), +—+ Cd/Sap. (100 mg/kg).

**Fig. 4.** Relative kidney weights of mice orally administrated Cd with saponin.

□—□ Control, ■—■ Cadmium (1 mg/kg), ▲—▲ Cd + Sa (10 mg/kg), △—△ Cd + Sa (50 mg/kg), +—+ Cd/Sap. (100 mg/kg).

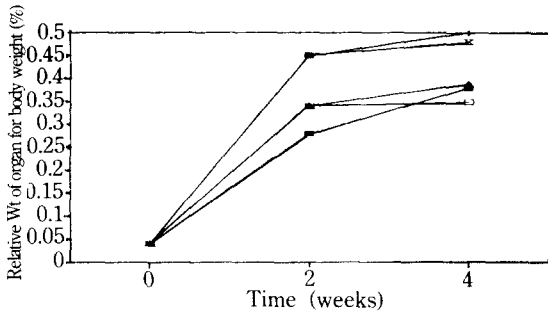


Fig. 5. Relative spleen weights of mice orally administered Cd with saponin. □-□ Control, ■-■ Cadmium (1 mg/kg), ▲-▲ Cd+Sa (10 mg/kg), △-△ Cd+Sa (50 mg/kg), +-+ Cd/Sap. (100 mg/kg).

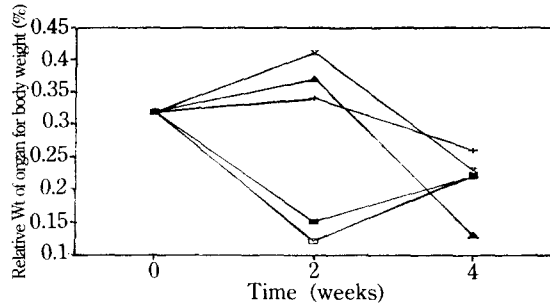


Fig. 6. Relative thymus weights of mice orally administered Cd with saponin. □-□ Control, ■-■ Cadmium (1 mg/kg), ▲-▲ Cd+Sa (10 mg/kg), △-△ Cd+Sa (50 mg/kg), +-+ Cd/Sap. (100 mg/kg).

($p < 0.05$), 그 외의 군은 대조군에 비해 다소 증가했으나, 유의한 차이는 없었다. 또한 흉선은 2주째의 경우, 모든 사포닌 혼합 투여군이 대조군과 카드뮴 단독 투여군에 비해 통계적으로 유의하게 증가했고 ($p < 0.05$), 4주째는 유의한 차이가 없었다.

Stowe³⁴, Itokawa³⁵는 카드뮴을 경구투여한 후 신장의 상대중량이 유의하게 증가됨을 관찰했고, Richardson³⁶은 간의 상대중량은 영향을 받지 않는다고 보고하였다. Chowdhury, Thomas도 간장, 신장, 비장, 흉선의 상대 중량에는 실험군과 대조군 사이에 유의한 차이가 없다고 보고하였다.

또한, Ohsawa는 체중에 대한 간장의 상대 중량은 종에 따라 증가 또는 감소하고 흉선의 경우는 유의한 차이가 없다고 보고하였다.

본 실험에서는 간장, 신장, 비장, 흉선 모두 4주째에는 대조군에 비해 다소 증가함을 보였으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

2. 입파수 세포의 관찰

혈액, 비장, 흉선에서 입파구 세포수를 관찰한 결과는 Table 7~9와 Fig. 7~9와 같다. 혈액의 경우, 카드뮴 단독 투여군이 대조군과 다른 실험군에 비해 감소하는 경향이 있으나, 통계적으로 유의하지는 않았다($p > 0.05$). 그러나 비장의 경우 사포닌 50 mg/kg 혼합 투여군이 대조군에 비해 현저하게 감소하였고($p < 0.05$) 흉선의 경우도 사포닌 혼합 투여군이 대조군 및 카드뮴 단독 투여군에 비해 입파구 수가 적게 나타났다.

Table 7. Lymphocyte observation in blood of mice orally administered Cd with saponin

(unit : $\times 10^6$ /ml blood)

| Weeks | Treatment (mg/kg) | | | | |
|-------|--------------------------|-------------|--------------|--------------|---------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 4 | 6.56 ± 4.94 ^a | 4.88 ± 1.68 | 5.64 ± 1.91 | 6.62 ± 2.06 | 7.42 ± 2.17 |

^a Mean ± S.D.

Table 8. Lymphocyte observation in spleen of mice orally administered Cd with saponin

(unit : $\times 10^6$ spleen weight)

| Weeks | Treatment (mg/kg) | | | | |
|-------|---------------------------|--------------|--------------|---------------------------|---------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 0 | 169.0 ± 57.3 ^a | | | | |
| 2 | 151.6 ± 38.1 | 110.8 ± 25.9 | 149.0 ± 4.6 | 132.4 ± 27.9 | 145.6 ± 39.2 |
| 4 | 189.2 ± 53.9 | 148.4 ± 43.7 | 163.6 ± 34.3 | 126.0 ± 21.8 ^b | 185.8 ± 37.4 |

^a Mean ± S.D.

^b Difference from control ($p < 0.05$)

Table 9. Lymphocyte observation in thymus of mice orally administrated Cd with saponin
(unit : $\times 10^6$ thymus weight)

| Weeks | Treatment (mg/kg) | | | | |
|-------|-----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 0 | 48.0 \pm 9.7 ^a | | | | |
| 2 | 57.3 \pm 23.9 | 46.0 \pm 19.2 | 47.5 \pm 12.6 | 45.8 \pm 17.3 | 40.3 \pm 7.4 |
| 4 | 43.1 \pm 15.3 | 38.3 \pm 17.6 | 28.9 \pm 11.5 | 26.0 \pm 11.9 | 29.2 \pm 12.8 |

^aMean \pm S.D.

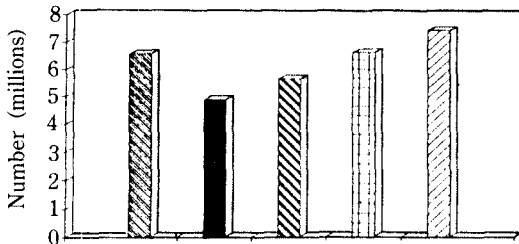


Fig. 7. Lymphocyte observation in blood of mice orally administrated Cd with saponin.

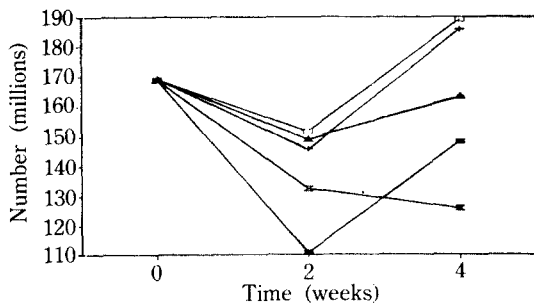


Fig. 8. Lymphocyte observation in spleen of mice orally administrated Cd with saponin.
□-□ Control, ■-■ Cd, ▲-▲ Cd/Sap. (10 mg/kg), △-△ Cd/Sap. (50 mg/kg), +-+ Cd/Sap. (100 mg/kg).

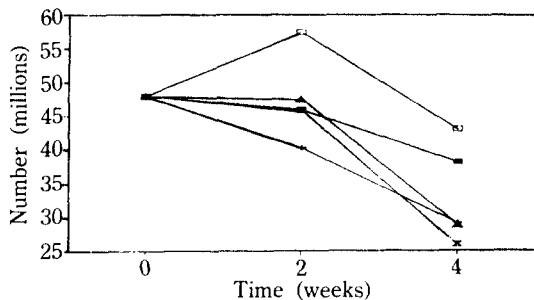


Fig. 9. Lymphocyte observation in thymus of mice orally administrated Cd with saponin.
□-□ Control, ■-■ Cd, ▲-▲ Cd/Sap. (10 mg/kg), △-△ Cd/Sap. (50 mg/kg), +-+ Cd/Sap. (100 mg/kg).

비장과 흉선의 경우 카드뮴 단독 투여군이 대조군 및 다른 실험군에 비해 임파구수가 작을 것으로 예상한 결과와는 반대현상이 나타났다. 이러한 결과는 실험상의 문제일 것으로 생각되는데, 명확한 이유설명에 대한 연구가 좀 더 필요하겠다.

Borgman 등은 카드뮴 투여군이 대조군에 비해 혈액 중 임파구 세포수가 다소 감소하고 비장과 흉선의 경우는 차이가 없었다고 보고하였으며, Chowdhry 등의 경우도 혈액, 비장, 흉선의 경우 유의한 차이가 없다고 보고하였다. 그러나, 비경구적인 방법에 의한 실험에서는 유의한 결과를 나타내었다.

본 실험에서는 혈액의 경우는 통계적으로 유의하지는 않았으나, 카드뮴군이 대조군 및 다른 실험군에 비해 다소 낮았고, 사포닌 혼합 투여군은 카드뮴 단독 투여군에 비해 높은 경향을 보였다. 이는 김 등의 연구³²⁾에서와 같이 인삼사포닌이 면역계의 발생기에 임파구의 분화, 증식을 촉진시키고, 그 외 면역관계 세포들의 분열, 증식을 촉진시킨다는 보고와 일치됨이 있다. 또한, 인삼사포닌은 체액성면역 보다 세포성 면역을 촉진시킨다는 보고가 있고 흉선, 혈액, 비장에 있는 임파구가 대부분 T-cell임을 감안한다면, 위의 실험결과를 설명할 수 있다.

3. 항체역가

ELISA의 방법으로 각 그룹간의 항체역가를 측정 한 결과는 Table 10, Fig. 10과 같다.

Friel 등의 연구에서 카드뮴이 상대적으로 저농도일 때는 생쥐의 면역조절 억제세포(Ts세포)의 상대 비율을 감소시켜, 항체생성을 증가시킨다고 한다.

Malave, Deruffino³⁷⁾의 연구에서도 50 mg/l의 카드뮴을 투여시 IgM, IgG, PFC 반응이 유의하게 증가한다. 그러나 300 mg/l로 카드뮴을 10주 투여시, 항체반응을 억제시킨다.

본 실험결과에서는 125배 희석한 혈청에서 항체역가가 고조를 이루었으나, 각 그룹간에는 유의한 차이가 없었다. 이는 투여량과 투여기간, 투여방법의 다양성에 의해 효과가 나타나지 않았거나, 인삼사

Table 10. LAntibody titer of mice orally administrated Cd with saponin

(unit : O.D.)

| Diluent | Treatment (mg/kg) | | | | |
|----------------|------------------------|-----------|--------------|--------------|---------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| 5 ² | 0.52±0.06 ^a | 0.45±0.14 | 0.42±0.02 | 0.39±0.06 | 0.45±0.06 |
| 5 ³ | 0.40±0.05 | 0.38±0.11 | 0.35±0.02 | 0.30±0.12 | 0.30±0.02 |
| 5 ⁴ | 0.20±0.03 | 0.21±0.08 | 0.19±0.02 | 0.17±0.09 | 0.18±0.03 |
| 5 ⁵ | 0.11±0.02 | 0.11±0.04 | 0.10±0.02 | 0.10±0.03 | 0.10±0.01 |
| 5 ⁶ | 0.09±0.03 | 0.08±0.02 | 0.08±0.01 | 0.07±0.01 | 0.08±0.01 |
| 5 ⁷ | 0.08±0.01 | 0.07±0.01 | 0.07±0.01 | 0.07±0.01 | 0.07±0.01 |

^aMean±S.D.

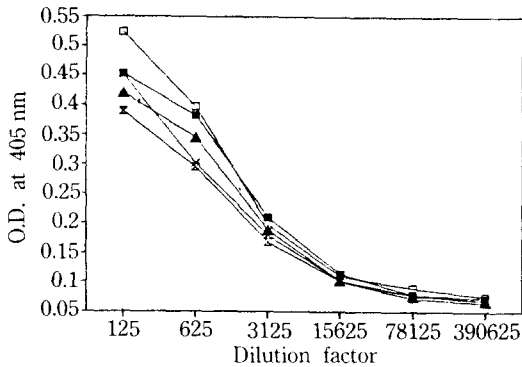


Fig. 10. Antibody titer of mice orally administrated Cd with saponin.

□-□ Ctrl, ■-■ Cd, ▲-▲ Cd+Sa (10), △-△ Cd+Sa (50), ×-× Cd+Sa (100).

포닌이 체액성 면역보다 세포성 면역을 촉진시키는데 더 효과가 있으므로, 항체역가에는 영향을 주지 않는다고 생각할 수 있다.

4. 혈청 총단백질 정량

혈청 총단백질량을 정량한 결과는 Table 11, Fig. 11과 같다.

인삼사포닌을 *in vivo*로 투여했을 때, 대사 자극을 일으키며, 혈청 단백질의 생합성을 자극한다고 보고되었고, 인삼 분획물들이 혈청내의 albumin과 γ -globulin 등의 생합성을 증가시킨다는 보고가 있으

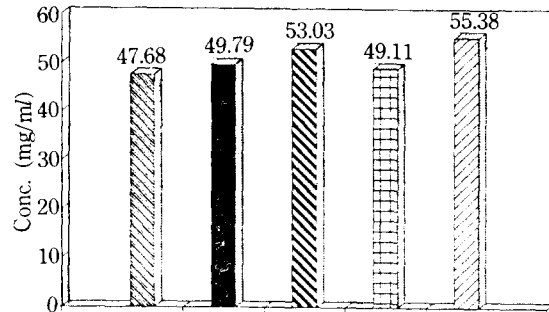


Fig. 11. Serum total proteins quantitation by Bicinchoninic acid (BCA) method.

며, *Ancylostoma caninum*로 감염시킨 흰쥐와 개에서 인삼에 의해 혈중 β, γ -globulin이 증가한다는 보고가 있다.

본 실험결과에서 혈청 총단백질량은 사포닌 혼합 투여군이 카드뮴 단독 투여군과 대조군에 비해 높았고, 사포닌 100 mg/kg 혼합 투여군은 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.05$). 이는 혈청 중 소량으로 존재하는 면역에 관계되는 γ -globulin의 양 이외의 다른 혈청 단백질-albumin, α, β -globulin이 인삼사포닌에 의해 생성, 촉진되었을 것으로 생각된다.

5. 장기내의 카드뮴 축적량

카드뮴 단독 투여군 및 사포닌 10, 50, 100 mg/kg

Table 11. Serum total proteins quantitation by BCA method

(unit : mg/ml)

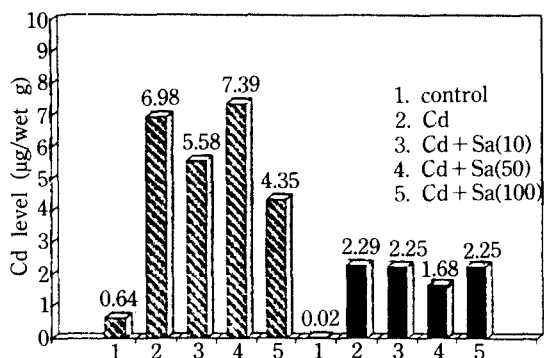
| Treatment (mg/kg) | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
|-------------------|-------------------------|------------|--------------|--------------|-------------------------|
| Concentration | 47.68±3.93 ^a | 49.79±6.33 | 53.03±5.10 | 49.11±4.13 | 55.38±5.26 ^b |

^aMean±S.D.

^bDifference from control ($p < 0.05$)

Table 12. Cd level of kidney and liver of mice orally administrated Cd with saponin (unit : $\mu\text{g}/\text{wet gram}$)

| Organs | Treatment (mg/kg) | | | | |
|--------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Control | Cd(1) | Cd(1)+Sa(10) | Cd(1)+Sa(50) | Cd(1)+Sa(100) |
| Kidney | 0.64 \pm 0.07 ^a | 6.98 \pm 1.54 ^b | 5.58 \pm 2.00 ^b | 7.39 \pm 5.60 ^b | 4.35 \pm 0.71 ^b |
| Liver | 0.02 \pm 0.01 | 2.29 \pm 0.74 ^b | 2.25 \pm 0.21 ^b | 1.68 \pm 0.47 ^b | 2.25 \pm 0.87 ^b |

^aMean \pm S.D.^bDifference from control ($p < 0.05$)**Fig. 12.** Cd level of kidney and liver of mice orally administrated Cd with saponin.

혼합 투여군의 간장, 신장에서 카드뮴 축적량의 차이는 Table 12, Fig. 12와 같다. 단위 g당 축적량은 신장이 간장에 비해 높았고, 신장, 간장 모두 실험군의 카드뮴 축적량이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 높았으나($p < 0.05$), 각 실험군간에는 유의한 차이가 없었다. 그러므로, 카드뮴의 축적량을 감소시키는데, 인삼사포닌이 영향을 미치지 않는다고 생각된다.

IV. 결 론

본 연구는 환경중에 널리 존재하는 카드뮴에 폭로되었을 때, 야기될 수 있는 면역체계의 이상에 인삼사포닌이 어떠한 영향을 미치는 가를 알아보는 데, 그 목적이 있다.

실험은 8월 12일부터 10월 5일까지 8주 동안 시행했으며, 대조군, 카드뮴(1 mg/kg) 단독 투여군, 카드뮴(1 mg/kg)과 사포닌 10, 50, 100 mg/kg 혼합 투여군 등 5군의 실험군으로 나누고, 각 군에 25마리씩 할당하였다. 관찰된 체중의 변화, 간장, 신장, 비장, 흉선의 상대 증량, 혈액, 비장, 흉선의 임파구 수의 변화, 항원 투여 후의 항체역가, 혈청 단백질량의 변화를 연구한 결과는 다음과 같다.

1. 각 그룹간의 8주간 체중 증가율은 대조군이 36.47%, 카드뮴 단독 투여군이 32.48%, 사포닌 10, 50, 100 mg/kg 혼합 투여군이 각각 32.49, 39.17, 24.27%로 나타났다.

2. 체중에 대한 간장, 신장의 상대 비율은 4주째에는 대조군에 비해 모든 실험군이 증가했다. 비장의 경우, 사포닌 50, 100 mg/kg 혼합 투여군이 대조군에 비해 유의하게 증가했고($p < 0.05$), 흉선의 경우는 유의한 차이가 없었다.

3. 임파구 세포수는 혈액의 경우 카드뮴 단독 투여군이 대조군에 비해 25.6% 감소하고, 사포닌 혼합 투여군은 카드뮴 단독 투여군에 비해 증가하는 경향을 보였고, 흉선, 비장의 경우는 유의한 차이가 없었다.

4. 항체역가는 각 그룹간에 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$).

5. 총 혈청 단백질은 대조군에 비해 다른 실험군이 높았으며, 특히 사포닌 100 mg/kg 혼합 투여군이 유의하게 높았다($p < 0.05$).

6. 카드뮴 축적량은 신장, 간장 순이었고, 모든 실험군의 카드뮴 축적량이 대조군에 비해 매우 유의하게 높았으나($p < 0.05$), 각 실험군간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

참고문헌

- 1) 김오식, 중금속의 독성영향, 산업독성학 동아기술, 2003-216 (1991).
- 2) Badrul Alam Chowdhury Jamesk. Friel, Cd-induced immunopathology is prevented by Zn administration in Mice, Nutrition and Immunology, 1788-1974 (1987).
- 3) Anderson, O., Nielsen, J. B. and Svendsen, P., Oral cadmium chloride intoxication in mice. *Toxi.* **48**, 225-236 (1988).
- 4) Robert, F. Borgmann, Bing, A. U. and Chandra, R. K., Immunopathology of chronic Cadmium ad-

- ministration in mice. *INT. J. Immunopharmac.* **8** (7), 813-817 (1986).
- 5) Fassett, Poisoning-prevention, diagnosis, treatment, 260-309 (1978).
 - 6) Patty, The metals, The industrial Hygiene & Toxicology, 1589-1604 (1982).
 - 7) 염용태, 배은상, 윤배중, 농작물 중 중금속 오염도와 1일 섭취량 및 허용기준 선정에 대한 연구, 예방의학회지, **13**(1), 3-12 (1980).
 - 8) Cherian, M. G., Goyer, R. A. and Valberg, L. S., Gastrointestinal absorption and organ distribution of oral CdCl₂ and Cd-metallothionein in mice. *J. Toxicol. Envir. Health.* **4**, 861-868 (1978).
 - 9) Frank, N. Kotsonis and Curtis, D. Klassen, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **41**, 667-680 (1977).
 - 10) Gunn, S. A. and Gould, T. C., Cd and other mineral elements, 377, Academic Press, New York (1970).
 - 11) Axelson, B. and Piscator, M., Renal damage after prolonged exposure to Cd, an experimental study. *Arch. Environ. Health.* **12**, 360-373 (1966).
 - 12) Perry, H. M. Jr. and Erlanger, M. W., Metal induced hypertension following chronic feeding of low doses of Cd and Hg. *J. Lab. Clin. Med.* **83**, 541-547 (1974).
 - 13) Johnston, R. E., Miya, T. S. and Schneel, Cd potentiation of drug response-role of liver. *Biochem. Pharmacol.* **24**, 154-160 (1967).
 - 14) Gabbiani, G., Baic, D. and Deziel, C., Toxicity of Cd for the central nervous system. *Exp. Neurol.* **18**, 154-160 (1967).
 - 15) Shippee, R. L. and Burgess, D. H. *et al.*, Cd-induced suppression of primary Immune response and acute toxicity in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **71**, 303-306 (1983).
 - 16) Piscator, M., Proteinuria in chronic Cd poisoning. *Arch. Environ. Health.* **5**, 55-62 (1962).
 - 17) Koller, L. D., Roan, J. G. and Kerkvliet, N. I., Mitogen stimulation of Lymphocytes in CBA mice exposed to lead and cadmium. *Environ. Res.* **19**, 177-188 (1979).
 - 18) Koller, L. D. and Roan, J. G., Effects of Pb and Cd on mouse peritoneal macrophages. *J. Reticuloendothel. Soc.* **21**, 7-12 (1977).
 - 19) Koller, L. D. and Exon, J. H. *et al.*, Antibody suppression by Cd. *Arch. Environ. Health.* **30**, 598-601.
 - 20) Koller, L., Immunosuppression produced by lead, Cadmium and mercury. *Amer. J. Vet. Res.* **34**, 1457-1458 (1973).
 - 21) Wesenberg, G. B. and Wesenberg, F., Effect of Cd on the immune response in Rats. *Environ. Res.* **31**, 413-419 (1983).
 - 22) Motoyasu ohsawa *et al.*, Strain differences in Cd-mediated suppression of lymphocyte proliferation in mice. *Toxi. Appl. Pharmacol.* **84**, 379-388 (1986).
 - 23) Peter, T. Thomas and Helen V. Ratajczak, Evaluation of Host resistance and immune function in Cd-exposed mice. *Toxi. Appl. Phar.* **80**, 446-456 (1985).
 - 24) 김미나, 정노팔, 생쥐의 자연살해세포에 미치는 인삼분획물의 영향, 한국인삼학회지, **13**(2), 223-2238 (1989).
 - 25) Brekman, I. I. and Dardymov, I. V., The 11th Pacific Science Congress (1986).
 - 26) Fabio, S., 5th int. Ginseng, Symp. (1988).
 - 27) Singh, V. K., Agarwal, S. S. and Gupta, B. M., Proc. 4th Int. Ginseng Symp. 225 (1984).
 - 28) Yeung, H. W., Proc. 3rd Int. Ginseng Symp. 245 (1980).
 - 29) 소진탁, 이진수, 김상준, 연대의대 논문집, **9**, 119 (1976).
 - 30) Hikokichi Oura and Susumu Hiai *et al.*, Studies on the Biochemical action of Ginseng saponin. *J. Biochem.* **77**, 1057-1065 (1975).
 - 31) 박한우, 김세창, 정노팔, 생쥐의 체액성 면역에 미치는 인삼사포닌 분획물들의 영향, 한국인삼학회지, **12**(1), 63-67 (1988).
 - 32) 김미정, 정노팔, 생쥐의 면역계에 미치는 인삼사포닌의 영향, 한국인삼학회지, **11**(2), 130-135 (1987).
 - 33) Joseph, A., Hill, M. D., Heidi, M. P. and Faris, B. S., Characterization of Leukocyte subpopulation in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fer. and Ster.* **50**(2), 216-222 (1988).
 - 34) Stowe, H. D., Wilson, M., Goyer, R. A. and Hill, C., Clinical and morphologic effects of oral Cd toxicity in Rabbit. *Arch. Path.* **94**, 389-405 (1972).
 - 35) Itokawa, Y., Abe, T., Tobei, R. and Tanaka, S., Renal and Skeletal lesions in experimental Cd poisoning. *Arch. Environ. Health.* **28**, 149-154.
 - 36) Richardson, M. E., Rospivey Fox, M. and Fry, B. E., Pathological changes produced in Japanese Quail by ingestion of Cd. *J. Nutr.* **104**, 323-338 (1974).
 - 37) Malave, I. and Deruffino, D. T., Altered immune response during Cd administration in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **74**, 40-56 (1984).

(Received August 30, 1992)