

## 흰쥐 臟器內 카드뮴 毒性에 對한 셀레늄의 防禦效果에 關한 研究

이중섭 · 박홍주 · 박경옥  
원광대학교 의과대학 예방의학교실

### A Study on the Protective Effects of Selenium Against Cadmium Toxicity in Mice

Jong Sub Lee, Hong Ju Park and Kyung Ok Park  
*Department of Preventive Medicine & Public Health,  
School of Medicine, Wonkwang University*

#### ABSTRACT

This study is performed to find out the effects of selenium against cadmium toxicity. The experimental mice were divided into 6 groups such as control group, cadmium alone treatment group, selenium treatment groups and two simultaneous treatment groups of selenium and cadmium. Mice were given intraperitoneal administration with two dosage of sodium selenite such as 1.0 mg/kg, 2.5 mg/kg body weight and cadmium chloride was administered 3.0 mg/kg body weight.

After giving the challenge dose, the concentration of cadmium and metallothionein and histopathological change of liver and kidney were determined.

The results were summarized as follows on;

1. The simultaneously administration of selenium and cadmium significantly more decreased cadmium concentration in kidney and liver tissues compared to the administration of cadmium only ( $P < 0.05$ ).
2. The simultaneously administration of selenium and cadmium more increased metallothionein concentration compared to administration of cadmium only.
3. The simultaneously administration of selenium and cadmium more decreased cadmium concentration in urine compared to the administration of cadmium only.
4. When liver and kidney tissues were observed with optical microscope, no obvious changes were visible in those tissues.

**Keywords :** Protective effect, selenium, cadmium, metallothionein

#### I. 서 론

카드뮴은 전기도금, 배터리, 플라스틱에서 색소첨착제와 안정제 그리고 금속합금의 한 요소로서 사용된다. 환경 카드뮴 오염의 주요원은 화석 연료부식, 노폐물 소각과 인산비료의 사용과 쓰레기 슬러지이다(Davis, 1984; Elinder, 1985).<sup>1,2,3)</sup> 식품은 카

드뮴을 사용하지 않는 사람에 대한 가장 큰 노출원이고, 가장 높은 농도는 갑각류, 조개류와 동물성체의 간장과 신장에서 발견된다(Elinder, 1985).<sup>3)</sup> 점차 증가하는 카드뮴의 환경축적과 흡수후 체내로부터 매우 낮은 제거율 때문에 주요 건강상의 관심은 카드뮴의 만성 저농도 폭로가 된다. 만성 카드뮴 폭로는 신장, 폐, 골의 손상을 포함하는 병리학적 소견의 측면에서 관심이 되어왔고(Tsuchiya, 1971).<sup>4)</sup> 카드뮴은 메탈로치오닌 형성에 기여되고, 신장에 전달되어 신장 세뇨관 기능부전을 일으킨다.

본 연구는 1994년 원광대학교 학술연구 조성비 지원에 의하여 수행되었음.

카드뮴의 장기에 대한 영향은 급성독성시 교환과 난소등 생식기 외에 순환기계, 폐에도 장애를 주는 것으로 보고되고 있다.

LD<sub>50</sub>에 유사한 용량의 카드뮴을 rat에 투여했을 때, 혈압과 신경계에 영향을 주는 것으로 알려지고 있다. Hoffman(1975)<sup>5)</sup> 등은 rat에 6 mg cadmium/kg body weight를 투여했을 때 형태학적인 변화가 일어남을 보고하였고, Dudley(1982)<sup>6)</sup> 등은 3.9 mg/kg body weight의 카드뮴을 Rats에 injection했을 때 카드뮴 급성독성의 주요 표적장기가 간임을 결론짓고 있다. 카드뮴 급성중독 후 혈압의 변화가 보고된 바 있다 (Dalhamn & Friberg, 1954; Perry 등 1970).<sup>7,8)</sup>

카드뮴 혼합물의 경구 투여는 간, 심장과 신장의 dystrophic 변화와 함께 gastric과 intestinal mucos의 desquamation과 necrosis를 유발하는 것으로 알려지고 있다(Tarasenko 등 1974; Vorobjeva & Sabalina 1975).<sup>9,10)</sup>

한편 카드뮴에 대한 반복적 혹은 장기폭로의 영향에 대해서도 많은 연구가 되어진 바 있다. 신장이 동물실험에서와 같이 소량의 카드뮴에 장기간 노출된 인간에서 표적장기임이 밝혀는데, 예로서 카드뮴에 노출된 근로자에서 발견된 것과 같은 Proteinuria의 형태가 동물에서도 존재함을 입증된 바 있다.

신장의 병변은 Prodan(1932)<sup>11)</sup>과 Wilson(1941)<sup>12)</sup> 등에 의해서 cat와 rats에 수개월간의 카드뮴을 대량 경구 투여한 후 처음 보고된 바 있다.

Prodan(1932)<sup>11)</sup>은 1개월 동안 1일 100 mg의 카드뮴을 cats에 feeding한 후 proximal tubular epithelium에서 desquamation의 다양한 정도를 보고한 바 있다. Wilson 등은 diet에 62 mg/kg의 카드뮴을 3개월간 폭로시킨 후 rats에서 slight한 tubular 변화를 보고하였다.

고농도의 카드뮴 폭로 연구는 Stowe 등(1972)<sup>13)</sup>에 의해 수행되었다. 카드뮴을 6개월간 음용수로 식이한 토끼에서(160 mg/l) 신장기능의 저하는 관찰되지 않았지만 조직병리검사에서 Proximal tube에서 현저한 형태학적인 변화가 관찰되었다.

셀레늄은 자연상태에서 몇개의 산화상태로 존재하고, 그 화학적 형태의 몇가지는 휘발성이다. 셀레늄은 도처에 산재하고 있지만 환경에서 셀레늄의 고, 저수준은 지표면의 불평등한 분포에 기인한다.

동물에서 급성 셀레늄 독성의 특징적 징후는 dimethyl selenite의 순환기 배출에 기인하는 취기이다. Dog와 rat에서 급성 셀레늄 독성의 그 밖의 징후는 vomiting, dyspnoea, tetanic spasms과 호흡기 장애로 인한 사망이다. Focal necrosis의 areas를

가지는 간장의 congestion, 신장, endocarditis, myocarditis의 congestion과 epicardium의 peticeal haemorrhage를 포함하는 병리학적 변화이다.

Sodium selenite의 보고된 LD<sub>50</sub>는 Species의 차이와 기타 변수들 때문에 2.3~13 mg selenium/kg body weight로 다양하다. 독성이 있는 것으로 입증된 selenium dioxide, hydrogen selenite와 selenium dust를 포함하는 다양한 selenium compounds에 대한 inhalation 노출은 호흡기계, 간장과 기타 기관들에 대해 damage를 주고 노출수준과 노출기간에 따라 치명적이 된다.

셀레늄에 대한 직업성 노출의 주요환경동료는 대기이고, 어느 경우에는 직접 피부접촉을 통해서이다. 셀레늄 혼합물은 셀레늄 dust, 셀레늄 dioxide, 그리고 hydrogen selenite이다. 산업체에 종사하는 근로자에서 셀레늄의 독성학적 잠재성은 실험동물에서 수행된 호흡기 노출 연구와 산업사고 ad hoc 사례 연구로부터 추론할 수 있다.

Metallothionein(MT)은 카드뮴의 신진 대사과정에서 중요한 역할을 하고 있는 저분자량의 금속 결합 단백질이다.

MT는 시스테인이 풍부하며, 히스티딘 또는 비 aromatic amino acids을 포함하고 이 단백질은 Margoshes와 Vallee(1957)<sup>14)</sup>에 의해 말의 신장피질에서 처음으로 확인되었다. 분자량은 대략 6,600이고, 이것은 비구형 형태를 나타낸다. Gel에 여과시킬 때 MT는 약 10,000의 분자량을 가지며 구형 단백질 처럼 움직인다. MT의 생화학적 기능을 연구한 것들이 몇가지 보고되고 있다(Kagi & Nordberg, 1979; Brady, 1982; Foulkes, 1982; Webb & Cain, 1982; Kagi & Kojima, 1987).<sup>15,16,17,18,19)</sup>

Piscator(1964)<sup>20)</sup>는 MT의 카드뮴 운반과 해독에 관한 역할에 관하여 제시하였으며, 여러 실험동물 뿐만 아니라 인간의 간장과 신장에서도(Pulrdo *et al.*, 1966; Chung *et al.*, 1986)<sup>21,22)</sup> 계속적으로 확인하였다. 쥐와 인간의 MT의 구조와 유전자 단백질 합성과정의 확인되었다.

MT의 두가지 주요한 형태는 포유동물의 조직에 특히 간장과 신장에 잘 나타나며 그것은 MT-I과 MT-II이다. 많은 유전자군의 조절하에서 합성이 유도되고, glucocorticoid와 독성물질인 Cd, Hg 뿐만 아니라 필수금속인 Zn, Cu에 의하여 합성이 활발해진다. *In vitro*에서 결합력은 비스무스, 코발트, 은, 금을 포함한 다른 많은 독성 금속들을 대상으로 연구되었다(Cherian & Nodberg 1983).<sup>23)</sup> MT는 두개의 분리된 금속-cysteine clusters의 사이에 mol당 일

금개의 금속 이온과 결합한다. 그리고 단일 분자는 예를 들어 Cd, Zn, Hg, Cu 등 하나 이상의 금속을 포함하고 있다.

카드뮴은 독성이 강한 중금속으로써 인체 내에 흡수되면 축적되어 다양한 질병양상을 보이는 금속으로 알려져 있다. 이러한 카드뮴은 metallothionein과 결합하면 독성이 완화되는 것으로 보고되고 있어, 신장 및 간장 내에서 metallothionein 형성량을 증가시키는 것으로 알려지고 있는 셀레늄이 카드뮴 독성에 미치는 영향을 분석하고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 실험동물

실험동물은 원광대학교 의과대학 실험동물 사육장에서 사육한 체중 20~25 g의 BALB/C마우스 수컷을 이용하였으며, 케이지당 5마리씩 넣어서 1주일간 실험실에서 안정화시킨 후 실험동물로 사용하였다. 실험에 사용된 마우스는 5개 실험군과 대조군에 각각 5마리씩, 부여 기간별 4개군으로 총 120마리로 구성되었다.

#### 2) 카드뮴 및 셀레늄

실험에 사용한 중금속은 cadmium chloride(CdCl<sub>2</sub>; 일본 Wako chemical 제품 GR급)와 sodium selenite (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>; 일본 Wako chemical 제품 GR급)를 택하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 약제투여 및 장기 적출

실험동물군은 Table 1과 같이 6군으로 구분하여 대조군(Group I), 카드뮴(3.0 mg/kg)단독 투여군(Group II), 셀레늄 저용량(1.0 mg/kg) 단독 투여군(Group III), 셀레늄 고용량(2.5 mg/kg)단독 투여군(Group IV), 카드뮴(3.0 mg/kg)과 셀레늄(1.0 mg/kg)의 병용 투여군 (Group V), 카드뮴(3.0 mg/kg)과 셀레늄(2.5 mg/kg)의 병용 투여군(Group VI)의 농도로 약제를 복강내 주사하였다.

카드뮴과 셀레늄의 투여용량은 Eaton과 Toal,<sup>24)</sup> Goering과 Klaassen<sup>25)</sup>의 결과를 참고하여 결정하였다. 약제 투여 후 6, 12, 24, 72 시간이 경과한 다음 각 Group당 5마리씩 경부탈구로서 도살시키고, 각 장기조직을 적출하여 카드뮴과 metallothionein농도 측정에 사용하였다.

#### 2) 조직내의 중금속 함량 측정

마우스를 에테르로 마취시키고 간장 및 신장을

**Table 1.** Experimental animal groups treated with cadmium chloride and sodium selenite

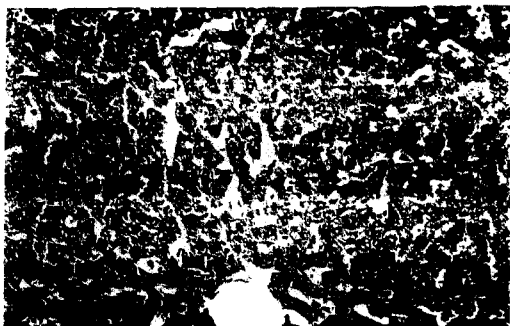
Experimental group	Treated doses (mg/kg)		Number of mouse
	CdCl <sub>2</sub>	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	
Group I Control	—	—	5
Group II CdCl <sub>2</sub>	3.0	—	5
Group III Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	—	1.0	5
Group IV Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	—	2.5	5
Group V CdCl <sub>2</sub> + Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	3.0	1.0	5
Group VI CdCl <sub>2</sub> + Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	3.0	2.5	5
Total			30

적출후 3차 증류수로 세척 후 냉동건조기에서 48시간 건조시킨 후 200°C 가열판에서 HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 및 HClO<sub>4</sub>를 이용한 습식탄화방법에 의하여 유기물을 분해시킨 후 C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>(25 w/v%) 10 ml와 brom thymol blue 지시약 2~3 방울을 넣고 NH<sub>4</sub>OH를 가하여 pH=9.5가 되도록 유지시킨 후 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (40 w/v%) 10 ml를 가한 후 Separatory funnel에 넣고 D.D.T.C.(10 w/v%) 10 ml를 넣고 M.I.B.K.를 넣고 격렬하게 흔든 후 방치하여 M.I.B.K.층을 분리하여 120°C 가열판에서 휘산시킨 후 0.1 N HCl로 용해 후 원자흡광분광광도계(atomic absorption spectrophotometry; Varian Spectr. AA-30)을 이용하여 장기내 카드뮴 함량을 측정하였다.

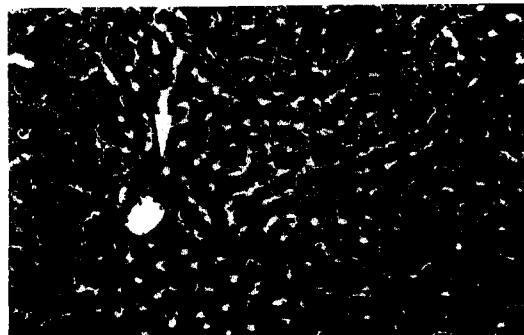
#### 3) 조직내 metallothionein함량 측정

마우스의 liver와 kidney를 각각 1g을 취하여, 생리적 식염수로 세척한 다음, 산분해 방법에 의하여 150°C 가열판에서 유기물을 분해시킨 후, B.T.B. 지시약 3방울 떨어뜨린 후 암모니아수로 pH=9.5가 되도록 중화시켜 여기에 ammonium sulfate용액(40 w/v%) 10 ml를 넣고 diethyl dithiocarbamate을 이용하여 킬레이트화물을 만든 다음, methyl isobutylketone으로 중금속을 추출하여 원자흡광분광광도계(Varian Spectr. AA-30)을 이용하여 중금속 함량을 분석하였다.

또한 조직 중의 metallothionein은 liver와 kidney를 1g 취하여 생리적 식염수로 세척한 다음, 0.25 M 설탕용액(sucrose, Sigma)를 가하면서 Teflon glass homogenizer를 이용하여 조직을 균질화되도록 하였으며, 4°C에서 20분간 원심분리(Beckman)하여 세포액(cytosol)을 얻었다. 세포액 0.2 ml를 0.03 M



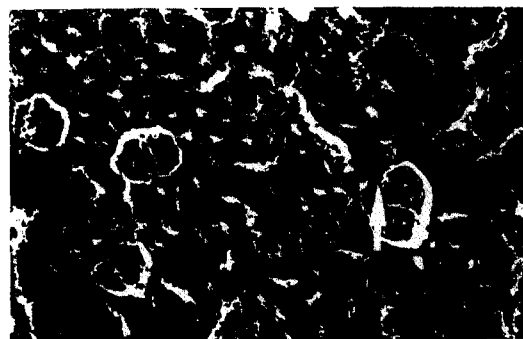
**Photo 1.** Photomicrograph of the liver of mouse treated with  $\text{CdCl}_2$  3.0 mg/kg body weight ( $\times 200$ ).



**Photo 2.** Photomicrograph of the liver of mouse treated with  $\text{CdCl}_2$  3.0 mg/kg and  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  1.0 mg/kg body weight ( $\times 200$ ).



**Photo 3.** Photomicrograph of the liver of mouse treated with  $\text{CdCl}_2$  3.0 mg/kg and  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  2.5 mg/kg body weight ( $\times 200$ ).



**Photo 4.** Photomicrograph of the kidney of mouse treated with  $\text{CdCl}_2$  3.0 mg/kg body weight ( $\times 200$ ).



**Photo 5.** Photomicrograph of the kidney of mouse treated with  $\text{CdCl}_2$  3.0 mg/kg and  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  1.0 mg/kg body weight ( $\times 200$ ).



**Photo 6.** Photomicrograph of the kidney of mouse treated with  $\text{CdCl}_2$  3.0 mg/kg and  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  2.5 mg/kg body weight ( $\times 200$ ).

tris-HCl(pH=8.0) 완충용액에 첨가한 후 10 ppm의  $\text{CdCl}_2$ (standard solution) 1 ml로 포화시키고 실온에서 5분간 배양하였다. 여기에 rat RBC hemolysate 0.2 ml를 가하여 과량의 Cd과 MT 이외의 모든 bio-

ligand를 제거하고, 100C 수욕탕에 1분간 정치시켜 Cd-bound hemoglobin을 변형시킨 후, 1,000 g(Beckman, room temperature)로 원심분리하여 상층액을 취하였다.

이상의 mouse RBC hemolysate 첨가와 열처리 및 원심분리 과정을 3회 반복하여 얻은 시료를 카드뮴농도 측정에 이용하고 최종적인 MT 농도 계산은 카드뮴 6g 원자가 1M의 MT(분자량 6,050)와 결합하는 것으로 환산하여 조직 mg당  $\mu\text{g}$ 의 농도로 표시하였다.

#### 4) 요충의 카드뮴농도 측정

실험동물을 metabolism cage에 고정 후 채취한 소변중 카드뮴의 농도를 AOAC방법(1984)<sup>26)</sup>에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉, 소변 3ml를 200~250 ml 삼각플라스크에 취하여 탈이온수 18ml 정도를 가한 후  $\text{C-H}_2\text{SO}_4$  15ml를 넣고 50~60°C의 수욕상에서 30분간 가열하여 단백질 등 유기물을 분해하고 다시  $\text{KMnO}_4$  1g를 가하여 50~60°C 수욕상에서 20분간 가열하여 분해를 종결하고 탈이온수 65ml와 소포제 2방울을 넣고  $\text{SnCl}_2$  5ml씩 넣은 후 환원기화법으로 원자흡광광도계(Varian Spectra, AA-30)로 측정하였다.

#### 5) 장기의 병리 및 조직검사

실험동물을 ether로 마취시킨 다음에 폐, 간장을 적출하고, 절취된 조직은 10%의 neutral formalin으로 24시간 동안 고정시켰고, 12~24시간 동안 수선을 시킨 후, 70%, 80%, 90%, 95% 및 100% 에탄올(ethyl alcohol)에 단계적으로 탈수과정을 거쳐 Xylene I, II, III로 투명시킨 후 paraffin으로 침투를 시켰다. 그 다음에 paraffin으로 포매를 한 후, 4  $\mu\text{m}$  두께로 절편하여 hematoxylin-eosin 염색하였다. 마지막으로 최종탈수 및 Xylene으로 투명시키고 봉입하였다. 각각의 조직은 광학 현미경으로 검경하였으며, 모두 200배의 배율로 촬영하였다.

### III. 결 과

각 실험군의 조직 내의 카드뮴 농도는 Table 2와

같다. 카드뮴 단독 투여군의 경우 신장내 카드뮴농도는 투여후 6시간에서 49.69  $\mu\text{g/g}$ 이었으나 카드뮴과 저용량 셀레늄(1.0 mg/kg)의 병용 투여군에서는 24.51  $\mu\text{g/g}$ , 카드뮴과 고용량 셀레늄(2.5 mg/kg)의 병용 투여군에서는 7.92  $\mu\text{g/g}$ 으로 점차 감소하는 것으로 나타났다.

약제투여 후 12시간, 24시간, 72시간에서는 카드뮴 단독 투여군에 비해 카드뮴과 셀레늄의 병용투여군에서 신장내 카드뮴농도가 유의하게 감소하는 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 한편 투여물질별로 시간이 경과함에 따라 신장내 카드뮴 농도의 변화를 보면 약제 투여후 12시간에서 카드뮴 농도가 최고치를 나타내다가 24시간, 72시간 순으로 점차 감소하는 경향을 보였다.

한편, 간장내 카드뮴농도는 카드뮴 단독 투여군의 경우 투여후 6시간에서 19.21  $\mu\text{g/g}$ 이었고, 카드뮴과 저용량(1.0 mg/kg) 셀레늄의 병용투여군에서는 20.36  $\mu\text{g/g}$ , 카드뮴과 고용량(2.5 mg/kg) 셀레늄의 병용투여군에서는 15.90  $\mu\text{g/g}$ 으로 셀레늄투여 용량에 따라 카드뮴 농도의 변화가 일정치 않았으나, 투여후 12시간, 24시간, 72시간으로 시간이 경과할수록 비례하여 간장내 카드뮴 농도가 점차 감소해 가는 경향을 보여주고 있다.

Metallothionein(MT)의 신장내 농도는 약제투여후 6시간에서 카드뮴 단독 투여군의 경우 0.14 mg/g이었고, 셀레늄 저용량(1.0 mg/kg)병용투여군은 0.14 mg/g, 셀레늄 고용량(2.5 mg/kg) 병용투여군은 0.15 mg/g으로 각 투여군에 차이가 없는 것으로 나타났다, 12시간과 24시간의 group에서도 각 투여군 간에 큰 차이는 보이지 않았다. 그러나 72시간 group에서는 카드뮴 단독 투여군의 metallothionein농도가 2.52 mg/g이었는데 비해, 카드뮴과 셀레늄 1.0 mg/kg 병용투여군, 카드뮴과 셀레늄 2.5 mg/kg 병용투여군에서는 각각 3.34 mg/g과 5.6 mg/g으

**Table 2.** Concentration of cadmium in liver and kidney of mouse treated with cadmium chloride and sodium selenite  
Unit; ( $\mu\text{g/g}$  wet weight)

Experimental group and treatment dose (mg/kg)	Liver				Kidney			
	Hour after treatment				Hour after treatment			
	6	12	24	72	6	12	24	72
Group I Control	ND	ND	0.02	ND	ND	ND	ND	ND
Group II $\text{CdCl}_2(3.0)$	19.21	24.52	10.96	6.31	49.69	106.35	14.27	8.62
Group III $\text{Na}_2\text{SeO}_3(1.0)$	ND	ND	0.02	ND	ND	ND	ND	ND
Group IV $\text{Na}_2\text{SeO}_3(2.5)$	ND	0.03	ND	ND	ND	0.01	ND	ND
Group V $\text{CdCl}_2(3.0) + \text{Na}_2\text{SeO}_3(1.0)$	20.36	23.91	5.95	3.72	24.51	43.94	9.16	3.72
Group VI $\text{CdCl}_2(3.0) + \text{Na}_2\text{SeO}_3(2.5)$	15.90	17.27	2.91	1.99	7.92	10.21	3.56	2.35

ND; not detected.

**Table 3.** Metallothionein concentration in liver and kidney of mouse treated with cadmium chloride and sodium selenite Unit:(mg/g)

Experimental group and treatment dose (mg/kg)	Liver				Kidney			
	Hour after treatment				Hour after treatment			
	6	12	24	72	6	12	24	72
Group I Control	0.05	0.07	0.06	0.05	0.14	0.17	0.16	0.16
Group II CdCl <sub>2</sub> (3.0)	0.07	0.08	0.18	0.75	0.14	0.19	0.41	2.52
Group III Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (1.0)	0.05	0.06	0.08	0.12	0.13	0.16	0.19	0.25
Group IV Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (2.5)	0.06	0.09	0.10	0.14	0.16	0.17	0.25	0.57
Group V CdCl <sub>2</sub> (3.0)+Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (1.0)	0.07	0.09	0.21	0.90	0.14	0.19	0.53	3.34
Group VI CdCl <sub>2</sub> (3.0)+Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (2.5)	0.07	0.09	0.20	0.93	0.15	0.19	0.55	5.62

**Table 4.** Urinary excretion of Cadmium of mouse treated with cadmium chloride and sodium selenite

Experimental group and treatment dose (mg/kg)	Cadmium content(ug/ml)			
	Hour after treatment			
	6	12	24	72
Group I Control	ND	ND	ND	ND
Group II CdCl <sub>2</sub> (3.0)	1.09	1.92	1.24	0.87
Group III Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (1.0)	ND	0.01	ND	ND
Group IV Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (2.5)	ND	ND	ND	ND
Group V CdCl <sub>2</sub> (3.0) + Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (1.0)	0.72	0.29	0.87	1.17
Group VI CdCl <sub>2</sub> (3.0) + Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (2.5)	0.03	0.24	0.71	0.17

로 셀레늄 투여 용량에 비례하여 metallothionein의 농도가 유의하게 증가하고 있음을 보여주고 있다.

간장내 MT의 농도는 약제 투여후 6시간에서 카드뮴 단독 투여군 및 카드뮴과 셀레늄의 저용량, 고용량 병용투여군 공히 0.07 mg/g으로 나타났고, 투여후 12시간, 24시간에서도 카드뮴 단독 투여군과 셀레늄 병용투여군 사이에 큰차이를 보이지 않았으나 투여후 72시간에서는 카드뮴 단독 투여군에서는 MT의 농도가 0.75 mg/g이었으나, 카드뮴과 셀레늄 저용량(1.0 mg/kg) 투여군에서는 0.90 mg/kg, 카드뮴과 셀레늄 고용량(2.5 mg/kg) 투여군에서는 0.93 mg/kg으로 나타났다.

한편, 투여 약제별로 시간이 경과함에 따른 간장내 MT농도의 변화를 보면 카드뮴 단독 투여시 6시간 후에는 0.07 mg/kg, 12시간 후에는 0.08 mg/kg, 24시간 후에는 0.18 mg/kg, 72시간 후에는 0.75 mg/kg으로 시간이 경과됨에 따라 간장내 MT의 농도는

점차 증가되고 있는 것으로 나타났다.

카드뮴과 셀레늄저용량(1.0 mg/kg), 고용량(2.5 mg/kg) 병용투여군에서는 시간의 경과와 간장내 MT농도사이에는 time-cause effect가 나타남을 보여주고 있다(Table 3).

마우스의 요중 카드뮴 농도는 약제 투여후 6시간에서 카드뮴 단독 투여군의 경우 1.09 µg/ml 이었고, 카드뮴과 셀레늄 저용량(1.0 mg/kg) 투여군 병용 투여군은 0.03 µg/ml로서 셀레늄 병용투여군에서 요중 카드뮴 농도가 감소되고 있는 것으로 나타났다.

약제투여 후 12시간, 24시간에서도 이와 유사하게 카드뮴과 셀레늄 병용 투여군에서 카드뮴 단독 투여군에 비해 요중 카드뮴 농도가 점차 감소하고 있으나, 72시간 후에는 카드뮴 단독 투여시 0.87 µg/ml, 카드뮴과 셀레늄 저용량(1.0 mg/kg), 셀레늄 고용량(2.5 mg/kg) 병용 투여군에서 요중 카드뮴 농도가 각각 1.17 µg/ml, 0.17 µg/ml로서 약간 불규칙적인 변화를 보이고 있다(Table 4).

카드뮴과 셀레늄을 단독 혹은 병용 투여한 후 간장과 신장조직의 병리학적 변화를 관찰한 결과는 Photo 1~6과 같다. 카드뮴 단독 투여시 간장조직의 문맥내 염증과 세포내 괴사현상이 약간 유발되었으나, 투여후 72시간째에는 카드뮴과 셀레늄 저용량(1.0 mg/kg), 셀레늄 고용량(2.5 mg/kg) 병용투여군 공히 카드뮴 단독투여군과 비교하여 간세포조직의 회복정도가 뚜렷하게 관찰되지 않았다. 신장조직내 변화는 주로 근위극 세뇨관괴사였다. 카드뮴 단독 투여군에서 나타난 조직상의 변화는 투여후 72시간에서 카드뮴과 셀레늄 저용량(1.0 mg/kg), 셀레늄 고용량(2.5 mg/kg)병용투여군 모두 신장 세포조직의 회복이 별로 관찰되지 않았다.

#### IV. 고 찰

Rats에서 카드뮴의 독성에 대한 셀레늄 투여의 방어기전은 상대적으로 저분자량 단백질로부터 고분자량 단백질로의 전환을 통해 이루어지는 것으로 알려지고 있다(Parizek *et al.*, 1971; Chen *et al.*, 1975).<sup>27,28)</sup> 아마 셀레늄은 강구로 투여했을 때는 이러한 전환은 이루어지지 않는 것으로 알려지고 있다. (Whanger, 1976)<sup>29)</sup> 카드뮴과 셀레늄의 antagonism (길항작용)은 셀레늄이 rats에서 카드뮴 장기 폭로에 의해 유발된 hypertension을 예방하는데서, 사람의 건강에 대한 적용가능성이 엇보인다(Perry *et al.*, 1976).<sup>30)</sup>

Parizek-Ostadalova(1967)<sup>31)</sup>는 단기 급성독성연구에서 셀레늄은 수은독성을 방어할 수 있음을 보고하였다. 이것은 셀레늄의 영양학적 역할 중의 하나가 정상적인 조건하에서 신체 내에서 미량의 독성금속에 대한 생체의 방어작용인 것으로 보인다. 또한 셀레늄은 납과 interact되지만 그 interaction은 수은이나 카드뮴보다 약하고, vitamin E는 연중독의 효과를 결정하는데서 셀레늄보다 중요하게 보인다(Levander, 1979).<sup>32)</sup> 셀레늄과 은의 interaction은 glutathione peroxidase activity가 은에 의해 억제된다는 보고이래 이론적으로 흥미가 있지만(Wagner *et al.*, 1975).<sup>33)</sup> 이 interaction은 실제적인 유의성을 가지는 것같이 보이지 않는다. Rats에서 selenate의 대량투여는 thallium 독성에 대해 방어하지만(Rusiecki, Brzezinski, 1966).<sup>34)</sup> 이러한 interaction은 자세하게 조사된 일은 없다.

실험동물에서 카드뮴의 독성효과는 유전요인, ontogenic 발달상태, 유기체의 기능상태, 어떤 영양물질이나 환경양항에 연속적 혹은 이질의 폭로여부에 의한다. 카드뮴에 의해 유도된 고환중양에 대한 저항은 inbred mice에서 단일 autosomal recessive gene에 의해 결정된다(Taylor *등*, 1973).<sup>35)</sup> 카드뮴의 기형효과는 카드뮴염의 소량 혹은 비독성 용량 처리로 고환이나 지명효과에 대한 저항을 유도하는 것으로 알려지고 있다(Terhaar *등*, 1965; Ito & Sawachi, 1966).<sup>36,37)</sup> 가능한 기전은 전처리에 의해 metallothionein합성의 유도이다. 이것은 카드뮴의 계속적인 투여는 metallothionein을 급속히 형성하고 이것은 독성을 완화시키는 것으로 작용한다(Nordberg, 1971).<sup>38)</sup> 유사하게 카드뮴 독성에 대한 아연의 방어효과는 부분적으로 metallothionein형 단백질의 합성증가의 유도에 의해 결정된다. Selenium 혼합물은 카드뮴의 생식기 독성과 기형성(Holmberg &

Ferm, 1969)<sup>39)</sup>을 예방하는데에서 고도로 효과적인 것으로 알려지고 있다(Kar *등*, 1960, Mason & Young, 1967; Parizek *등* 1968).<sup>40,43)</sup>

지명성(Parizek *등*, 1968)<sup>42,43)</sup>과 기형효과(Holmbergs & Ferm, 1969)<sup>39)</sup>는 Selenium 혼합물이 카드뮴과 동시에 주어졌을 때 예방되는 것으로 보고되고 있다.

본 실험에서 셀레늄과 카드뮴을 동시에 투여한 경우 조직내의 카드뮴 농도는 카드뮴 단독 투여군에 비해 감소하였으나, metallothionein의 농도는 현저한 증가를 보이고 있다. 셀레늄이 단독으로 투여된 실험동물에서 타 중금속과는 무관한 MT의 생성이 관찰된다는 양<sup>44)</sup> 등의 보고가 있었으나, 본 실험에서는 셀레늄 단독투여시 생성된 MT량은 카드뮴과 셀레늄 병용투여시의 MT량에 비해 소량(간장에서는 1.0 mg 셀레늄 투여시 0.12/0.90 mg이었고, 2.5 mg 셀레늄 투여시는 0.14/0.93 mg이었으며, 신장에서는 1.0 mg 셀레늄 투여시 0.25/3.34 mg이었고, 2.5 mg 셀레늄 투여시는 0.57/5.62 mg이었던 점으로 보아 셀레늄에 의해 유도된 MT에 의한 효과보다는 MT와는 무관하게 셀레늄과 카드뮴의 단순한 화학 결합에 의한 비환성화일 가능성이 크다.<sup>45,46)</sup> 본 실험에서 사용된 카드뮴 및 셀레늄의 농도는 3.0 mg/kg 및 1.0 mg/kg, 2.5 mg/kg으로 조직에 큰 손상을 주지 않으면서 MT를 유도할 수 있는 적정농도이다. 본 실험에서 얻은 간장조직에서의 MT량은 카드뮴 단독 투여시 0.75 mg/g, 카드뮴과 1.0 mg/kg 셀레늄 병용 투여시 0.90 mg/g, 카드뮴과 2.5 mg 셀레늄 병용투여시는 0.93 mg/g이었고, 신장조직에서의 MT량은 카드뮴 단독 투여시 2.5 mg/g 셀레늄병용투여시는 5.62 mg/g으로 간장조직에 비해 신장조직에서 MT량이 많이 검출되었으며 김,<sup>47)</sup> Dudley<sup>48)</sup> 등의 실험과는 배치되는 결과를 얻었다.

Goering과 Klaassen<sup>45)</sup>은 2.0 mg/kg의 CdCl<sub>2</sub>와 12.0 mg/kg의 ZnCl<sub>2</sub>를 1회 피하 주사한 후 고농도의 카드뮴을 정맥주사한 결과 간조직의 염색세포침윤, 간소염의 부종, 핵위축 및 간괴사등의 간세포 손상이 현저히 감소됨을 관찰하였는데 본실험에서도 카드뮴 단독투여군에 비해 카드뮴과 셀레늄을 병용투여한 군에서 미세하게나마 손상된 간세포조직이 회복되고 있음을 보여주고 있다. 따라서 이상의 실험결과 조직내 MT생성량과 카드뮴 축적농도는 체내 독성발현과 밀접한 관계가 있음을 보여주고 있다. 그러나 셀레늄의 카드뮴 독성 억제에 대한 기전을 밝히는 데는 셀레늄과 카드뮴의 투여경로, 투여기간, 투여농도등을 고려한 실험과 조직내의 셀레늄 관련효소

의 활성등을 검정해야 할 것으로 판단된다.

## V. 결 론

셀레늄이 카드뮴의 독성에 어떠한 영향을 미치는지를 알기 위해 흰쥐(mouse)를 대상으로 셀레늄과 카드뮴을 투여하여 간장과 신장조직내 카드뮴 축적량, metallothionein량, 조직상의 변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) Mouse의 신장과 간장 조직내 카드뮴 농도는 카드뮴과 셀레늄 동시 투여군에 비해 카드뮴만 단독 투여된 군에서 농축량이 증가하는 경향을 보였다 ( $P < 0.05$ ).

2) 메탈로치오닌 농도는 카드뮴, 셀레늄 동시 투여군에서 카드뮴만 단독 투여된 그룹에 비해 높은 축적량을 보였다.

3) 요중 카드뮴 농도는 카드뮴 단독 투여군에 비해서 카드뮴과 셀레늄 동시 투여군에서 낮은 검출률을 보였다.

4) 간장과 신장조직의 병리학적 변화를 관찰한 결과 간장 조직에서 단독 투여시 발생된 문맥내 염증과 세포내 괴저 현상이 카드뮴과 셀레늄 병용 투여로서 그 회복정도는 뚜렷하게 관찰되지 않았고, 신장조직에서도 카드뮴 단독 투여시 발생한 근위극 세포관 괴사가 카드뮴과 셀레늄 병용투여시에도 그 회복정도가 현저하지 않았다.

## References

- Davis, R. D. : Cadmium complex environmental problem. Part II. Cadmium in sludges used as fertilizer. *Experientia(Basel)*, **40**(2), 117-126, 1984.
- Elinder, C.-G., Edling, C., Lindberg, E., Kagedal, B. and 7 Vesterberg, O. : Assessment of renal function in workers previously exposed to cadmium. *Br. J. ind. Med.*, **42**, 754-760, 1985a.
- Elinder, C.-G., E. C., Lindberg, E., Kagedal, B. and 7 Vesterberg, O. :  $\beta$ -2-microglobulinuria among workers previously exposed to cadmium: follow-up and dose-response analyses. *Am. J. ind. Med.*, **8**, 553-564, 1985b.
- Tsuchiya, K. and Sugita, M. : A mathematical model for during the biological half-life of a chemical. *Nord. Hyg. Tidskr.*, **53**, 105-110.
- Hoffman, E. O., Cook, J. A., Diluzio, N.R. and Coover, J. A. : The effects of acute cadmium administration in the liver and kidney of the rat. *Lab. Invest.*, **32**, 655-661, 1975.
- Dudley, R. E., Svoboda, D. J. and Klaassen, C. O. : Acute exposure to cadmium causes severe liver injury in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **65**, 302-313, 1982.
- Dalhamn, T. and Friberg, L. : The effect of cadmium on blood pressure and respiration and the use of dimercaprol(BAL) as antidote. *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, **10**, 199-203, 1954.
- Perry, H. M., Jr & Erlanger, M. W., Yunice, A., Schoepfle, E. and perry, E. F. : Hypertension and tissue metal levels following intravenous cadmium, mercury, and zinc. *Am. J. Physiol.*, **219**, 755-761, 1970.
- Tarassenko, N., Vorobjeva, YU., R. S., Sporodomava, V. S. and Sabalina, L. P. : Experimental investigation of toxicity of cadmium and zinc caprylates. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, **18**, 144-153, 1974.
- Vorobjeva, R. S. and Sabalina, L.P. : Experimental investigations of toxic properties of various cadmium compounds. *Gig. i Sanit.*, **2**, 102-104(in Russian), 1975.
- Prodan, L. : Cadmium poisoning. II. Experimental cadmium poisoning. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **14**, 174-196, 1932.
- Wilson, R. H., De EDS, F., and COX, A.J., Jr : Effects of continued cadmium feeding. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **71**, 222-235, 1941.
- Stowe, H. D., Wilson, M. and Goyer, R. A. : Clinical and morphological effects of oral cadmium toxicity in rabbits. *Arch. pathol.*, **94**, 389-405, 1972.
- Margoshes, M. and Vallee, B. L. : A cadmium in kidney protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 4813-4814, 1957.
- Kagi, J. H. R. and Nordberg, M. : Metallothionein, Basel, Birkhauser Verlag, 1979.
- Brady, F. O. : The physiological function of metallothionein. *Trends biochem. Sci.*, **7**, 143-145, 1982.
- Foulkes, E. C. : Role of metallothionein in transport of heavy metals. In: Foulkes, E. C., ed. Biological roles of metallothionein, Amsterdam, Oxford, New York, Elsevier Science Publishers, pp. 131-140.
- Webb, M. and Cain, K. : Functions of metallothionein. *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 137-142, 1982.
- Kagi, J. H. R. and Kohima, Y. : Metallothionein II. Proceedings of the Second International Mee-



- ting on Metallothionein and Other Low Molecular Weight Metal-Binding Proteins, Zurich, 21-24 August, 1985, Basel, Birkhauser Verlag, 1987.
- 20) Piscator, M. : On cadmium in normal kidneys together with a report on the isolation of metallothionein from livers of cadmium-exposed rabbits. *Nord. Hyg. Tidskr.*, **12**, 335-344, 1964.
  - 21) Pulrdo, P., Kagi, J. H. and Vallee, B. L. : Isolation and some properties of human metallothionein. *Biochemistry*, **5**, 1768-1777, 1966.
  - 22) Chung, J., Narty, N. O. and Cherian, M. G. : Metallothionein levels in liver and kidney of Canadians-A potential indicator of environmental exposure to cadmium. *Arch. environ. Health*, **41**(5), 319-323, 1986.
  - 23) Cherian, M. G. and Nordberg, M. : Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. *Toxicology*, **28**, 1-15, 1983.
  - 24) Eaton, D. L. and Toal, B. F. : Evaluation of the Cd/hemoglobin affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **66**, 134, 1982.
  - 25) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Tolerance to cadmium-induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 308, 1984.
  - 26) A.O.A.C. : Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 12th Edition, W. Horwitz., Ed., Association of official analytical chemists, Washington, D.C., 1975.
  - 27) Parizek, J. and Ostadalova, I., Kalouskova, J., Babicky, A. and Beans, J. : The detoxifying effects of selenium. Interrelations between compounds of selenium and certain metals. In: Mertz, W. and Cornatzer, W. E., ed. Newer trace elements in nutrition, New York, Marcel Dekker, Inc. pp. 85-122, 1971.
  - 28) Chen, R. W., Whanger, P. D. and Weswig, P. H. : Selenium-induced redistribution of cadmium binding to tissue proteins: a possible mechanism of protection against cadmium toxicity Bionorgan. *Chem.*, **4**, 125-133, 1975.
  - 29) Whanger, P. D. : Selenium versus metal toxicity in animals. In: Proceedings of the Symposium on Selenium-Tellurium in the Environment, Pittsburgh, Pennsylvania, Industrial Health Foundation, pp. 234-252, 1976.
  - 30) Perry, H. M., Erlanger, M. W. and Perry, E. F. : Limiting conditions for the induction of hypertension in rats by cadmium. In: Hemphill, D. D., ed. Trace substances in environmental health. X, Columbia, Missouri, University of Missouri Press, pp. 459-467, 1976.
  - 31) Parizek, J. and Ostadalova, I. : The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication. *Experientia(Basel)*, **23**, 142-143, 1967.
  - 32) Levander, O. A. : Lead toxicity and nutritional deficiency. *Environ. Health Perspect.*, **29**, 115-125, 1979.
  - 33) Wagner, P. A., Hoekstra, W. G. and Ganther, H. E. : Alleviation of silver toxicity by selenite in the rat in relation to tissue glutathione peroxidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **148**, 1106-1110, 1975.
  - 34) Rusiecki, W. and Brzezinski, J. : Influence of sodium selenate on acute thallium poisonings. *Acta Pol. Pharm.*, **23**, 74-80.
  - 35) Talor, B. A., Heiniger, H. J. and Meier, H. : Genetic analysis of resistance to cadmium-induced testicular damage in mice(37380). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **143**, 629-633, 1973.
  - 36) Terhaar, C. J., Vis, E., Roudabush, R. L. and Fassett, D. W. : Protective effects of low doses of cadmium chloride against subsequent high oral doses in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **7**, 500-505, 1965.
  - 37) Ito, K. and Sawauchi, K. : Inhibitory effects on cadmium-induced testicular damage pretreatment with smaller cadmium doses. *Okajimas Folia anat. Jpn.*, **42**, 107-117, 1966.
  - 38) Nordberg, G. F., Piscator, M. and Lind, B. : Distribution of cadmium among protein fractions of mouse liver. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **29**, 456-470, 1971.
  - 39) Holmberg, R. E., Jr and Ferm, V. H. : Inter-relationship of selenium, cadmium, and arsenic in mammalian teratogenesis. *Arch. environ. Health*, **18**, 873-877, 1969.
  - 40) Kar, A. B., Das, R. P. and Mukerji, B. : Prevention of cadmium-induced changes in the gonads of rat by zinc and selenium: A study in antagonism between metals in the biological system. *Proc. Natl Inst. Sci. India Part B. Biol. Sci.*, **26**, 40-50, 1960.
  - 41) Mason, K. E. and Young, J.O. : Effectiveness of selenium and zinc in protecting against cadmium-induced injury of rat testis. In: Muth, O. H., ed. symposium: Selenium in Biomedicine,

- Westport, Connecticut, Avi, pp, 383-394, 1967.
- 42) Parizek, J., Ostadalova, I., Benes, I. and Pitha, J. : The effect of a subcutaneous injection of cadmium salts on the ovaries of adult rats in persistent oestrus. *J. Repros. Fertil.*, **17**, 559-562, 1968a.
- 43) Parizek, J., Ostadalova, I., Benes, I. and Babicky, A. : Pregnancy and trace elements: The protective effect of compounds of an essential, 1968b.
- 44) 양요환, 이효민, 신동천, 정용 : 흰쥐의 무기수은 투여시 Metallothionein 형성에 대한 셀레늄의 보상효과. *대한산업의학회지*, **1**, 236, 1989.
- 45) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Zinc induced tolerance to cadmium hepatotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 299, 1984.
- 46) Dudley, R. E., Gammal, L. M. and Klaassen, C. D. : Cadmium-induced hepatic cadmium metallothionein in nephrotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **77**, 414, 1985.
- 47) 김정현, 이재형, 기노석, 고대하 : Selenium에 의한 흰쥐의 장기내 Metallothionein 변화와 Cadmium에 미치는 영향. *한국환경위생학회지*, **1**, 18, 1992.