

카드뮴 중독에 대한 산두근 추출액의 해독효과에 관한 연구

이종섭 · 박경옥 · 이정미
원광대학교 의과대학 예방의학교실

A Study on the Effects of *Radix Menispermis* Extracts Against Cadmium Chloride Sub-chronic Toxicity in Rats

Jeong-sub Lee, Kyung-ok Park and Jung-mi Lee

Department of preventive medicine & Public Health, School of Medicine, Wonkwang University

(Received May 4, 1996)

(Accepted May 20, 1996)

ABSTRACT : This study was conducted to investigate the antitoxic effects of *Radix Menispermis* extracts against cadmium toxicity. The experimental rats were divided into 5 groups such as control group, cadmium alone treatment group and simultaneous treatment groups of cadmium and three doses of *Radix Menispermis* extracts. Each group was administered with different dose of *Radix Menispermis* extracts such as 0.55 mg, 1.10 mg, 1.65 mg/kg wet weight in pellets for 12 weeks. Cadmium Chloride ($CdCl_2$) was administered by 4 mg/kg body weight. The results were summarized as follows:

1. The simultaneous administration of cadmium and *Radix Menispermis* significantly more decreased cadmium concentration in liver tissues compared to the administration of cadmium only ($P < 0.05$).
2. When blood were measured, no significantly difference in haemoglobin, haematocrit, erythrocyte values compared to the administration of cadmium only.
3. The simultaneous administration of cadmium and *Radix Menispermis* more increased metallothionein concentration in liver than the administration of cadmium only ($P < 0.05$).
4. There were the histopathological slight changes in the liver and kidney tissues of rats.

Key Words : *Radix Menispermis*, Cadmium chloride, Sub-chronic toxicity

I. 서 론

급속한 산업발달로 인하여 산업사회의 부산물인 각종 오염물질이 생태계로 유입됨에 따라 점차 환경오염이 가중되고 먹이사슬을 통한 생물학적 농축으로 인해 중독에는 생물의 생존에까지 영향을 미치고 있다. 특히 일부 유해중금속의 생태계오염에 의한 생체내 유입 및 축적으로 다양한 독성과 중독사건등 사회적 문제를 야기시킨 바 있다(Fassett, 1980; Piscator, 1985).

이들 중금속중 카드뮴은 주로 아연 광석의 제련시 부산물로 얻어진다(Worker, 1961). 따라서 카드뮴의 생산량은 아연의 생산량과 밀접하게 연관되었다. 세계적으로 일년에 평균 생산과 소비량은 27,000톤에 이르고 있다(Degrave, 1981).

본 연구는 1995년도 원광대학교 교내 연구비에 의해 수행되었음.

카드뮴의 대사는 매우 긴 생물학적 반감기를 가지고 따라서 생체내에서 지속적인 축적이 이루어진다(Page, 1986).

인간에서 카드뮴량의 약 5%는 경구로 흡수되어지고, 위장관에 의한 흡수는 여러가지 nutritional factor에 의해 영향을 받는다.

혈액중 카드뮴의 90% 이상이 세포에서 발견되며 카드뮴 저장의 2대 장소는 간장과 신장이다. 그곳에 축적된 카드뮴량은 생체중하중의 약 50%에 이른다. 비직업적으로 노출된 사람에서 간장중 카드뮴의 농도는 연령에 따라 계속적으로 증가하며, 신장에서도 역시 최소한 50-60세까지 연령에 따라 증가한다. 유럽과 미국에서 renal cortex의 카드뮴 평균치는 15-50 ppm으로 보고되고 있다. 산업장의 노동자에서 Kidney Cortex의 카드뮴 농도는 훨씬 높을 것이다(예로서 300 ppm이상까지). Renal damage가 발생했을 때 신장에서 카드뮴

수준은 감소하며 조직에서 카드뮴은 주로 cystein residue가 풍부한 metallothionein 형성에 기여한다.

누적적인 독성효과로 흡수된 카드뮴의 적은 부분만이 배출된다. 이 배출은 주로 뇨를 통해 이루어진다. 뇨 카드뮴의 편린은 metallothionein이다. 이 parameter들 사이에는 밀접한 관련성이 있음이 보고되고 있다 (Oh 등, 1981). 카드뮴의 요중 배출은 생체하중과 비례하고 비직업적으로 노출된 사람에서는 최소 50-60세까지 연령에 따라 증가한다.

인간에서 급성경구중독은 보통은 카드뮴도금된 용기에 저장하는 동안 카드뮴으로 오염된 산성식품이나 음료의 섭취로 기인된다. 또한 작업장에서 손가락을 뜯기거나 흡연, 식사중 카드뮴분진에 노출된 노동자에서 관찰된다. 증상은 위장관의 자극으로 매스꺼움과 구토 등이다. 치명적인 중독의 경우 증상은 수분손실로 인한 쇼크와 급성신장손상 혹은 순환기 기능저하가 뒤따른다. 카드뮴에 대한 장기간의 노출은 여러 기관(신장, 폐, 골, 혈액상)의 영향을 줄 수 있다. 그것은 역시 카드뮴이 인간에 대해 발암성 물질이며 순환기계질환(특히 고혈압)의 발전에 역할을 하고 있음을 암시하고 있다(Page 등, 1986; 時逸人編著). 유용한 정보는 인간에서 카드뮴의 주요장기는 신장임을 제시하고 있다.

카드뮴은 형태적인, 기능적인 변화가 일어나는 renal Cortex에 축적된다(Page 등, 1986). 전통적으로 기능적인 병변은 저분자 단백질(β_2 -microglobulin, retinol binding protein, lysozyme)을 배출하는 Fanconi syndrome과 같은 tubular type의 단백뇨이다. 이 단백뇨는 glomeruli를 통하여 여과되는 저분자-단백질(MW < 40000)로서 정상적으로는 거의 완전히 Proximal tubule에서 재흡수된다. 최근 뇨중 β_2 -microglobulin의 결정은 tubular단백뇨의 초기검출을 위해 광범위하게 사용되는 검사이다(Piscater, 1966 a; Perterson *et al*, 1969; Peterson and Berggard, 1971; Lauwerys *et al*, 1974 a, Bwrnard *et al*, 1976, 1982). 따라서 저분자나 고분자 단백질의 증가된 요중 배출은 유의한 증후이며 초기단계에서 카드뮴에 의해 유도된 신장손상을 검출하기 위해 동시에 관찰되어야만 한다. 중독의 초기단계에서 특이적 혈장단백질의 유의한 배출의 증가는 총단백뇨가 정상치내에 존재할 때도 발견될 수 있다.

산두근은 두과(Leguminosae)에 속한 권목인 황두근의 根(上海中醫學院編, 1975; 周風梧主編, 1981; 常敏毅 編著, 1987; 科學百科辭典出版社, 1991; 時逸人編著; 陸昌洙外編著, 1982; 傳統醫學研究所編, 1994; 陳新謙, 金有豫編, 1951; 顏正華主編, 1991)이나 同屬近

緣植物인 땅비사리와 방기과(Menispermaceae)에 속한 다년생 초본인 새모래덩굴의 根(周風梧主編, 1981; 常敏毅 編著, 1987; 李樹猷 編著, 中華民國 59; 長春中醫學院革命委員會編, 1970; 李尙仁著, 1975; 戴新民著, 中華民國 63; 崔樹德主編, 1989)으로, 氣味는 唐의 書(宋·唐慎微著, 中華民國 65)에 “甘寒無毒”한다고 하였으나 李의 書(明·李時珍, 1982)에서는 “苦寒無毒”이라 하였으며 “解諸藥毒, 清熱解毒, 清利咽喉, 止痛, 消脹腫毒 등”(葉顯純主編, 1988; 江蘇新醫學院編, 1977)의 효능이 있는것으로 알려지고 있다.

최근 중금속 해독실험으로 李(1994)는 복령을 이용하여 마우스 장기내 cadmium 해독에 관한 연구를 하였으며 李(1993)는 감두탕이 鉛中毒에 대한 예방효과를 보고하였으며 李(1991)는 니켈 급성중독에 대한 인삼 사포닌의 방어효과에 관한 연구를 하였으나 산두근의 중금속 해독에 관한 연구는 아직 보고된 바가 없다. 이에 본 연구는 清熱解毒(葉顯純主編, 1988)의 작용이 있는것으로 알려진 산두근을 이용하여 중금속 해독효과가 있는지를 규명코자 실시되었다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험 동물 및 재료

1) 동물 및 사료

실험동물은 원광대학교 의과대학 동물사육장에서 사육한 체중 150±30 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 암컷을 이용하였으며, 실험실 환경은 온도 20°C, 습도 55%로 維持하고 cage 당 5마리씩 넣어서 일주일동안 실험용 펠레트 사료(신촌사료 주식회사)와 수분을 공급하여 안정화시킨 후 사용하였다.

2) Cadmium 및 산두근

실험에 사용한 중금속은 cadmium chloride(CdCl₂; 일본 Wako chemical 제품 GR급)과, 산두근(Radix Menispermis)은 8, 9월경에 채취한 후, 정선하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) 조제

산두근 200 g을 2000 ml round flask에 넣고 600 ml의 methylalcohol을 넣은 다음 冷却器를 附着시키고 3시간 還流추출하여 70°C에서 1차 추출하였다. 1차 추출하여 얻은 추출물을 ethylacetate를 이용하여 2차 추출물을 얻어 그 분획을 실험에 사용하였다.

2) 투여

실험동물은 Table 1과 같이 5군으로 구분하여 1군당 5마리씩 하여 control 군(Group I), cadmium(4 mg/kg) 단독투여군(Group II), cadmium(4 mg/kg)과 산두근 저용량(0.55 mg/kg)의 병용투여군(Group III), cadmium(4 mg/kg)과 산두근 중용량(1.10 mg/kg)의 병용투여군(group VI), cadmium(4 mg/kg)과 산두근 고농도(1.65 mg/kg)의 병용투여군(Group V)으로 사료에 혼합하여 12주간 투여하였다.

3) 장기적출

사료 투여후 12주가 경과한 다음 각 group당 5마리씩屠殺시키고, 혈액과 각 장기조직을 적출하여 cadmium과 metallothionein 농도, β_2 -microglobulin량, 병리조직상의 변화 등의 측정에 사용하였다.

4) 조직내의 중금속 함량 측정

환취를 ether로 마취시키고 간장및 신장, 비장을 적출한 다음 3차 증류수로 洗滌하여 냉동건조기에서 48시간 건조시킨 후 200°C 가열판에서 HNO_3 , H_2SO_4 및 HClO_4 를 이용한 습식산화방법에 의하여 유기물을 분해시킨 후 $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_7$ (25 w/v%) 10 ml와 bromthymol blue 지시약 2-3방울을 넣고 NH_4OH 를 가하여 pH=9.5가 되도록 유지시키면서 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (40 w/v%) 10 ml를 가한 다음 Separatory funnel에 Sodium diethyl dithiocarbamate(10 w/v%) 10 ml와 Methyl isobutyl ketone을 넣고 격렬하게 흔든 후 방치하여 Methyl isobutyl ketone층을 분리하여 120°C 가열판에서 휘산시킨 후 0.1N HCl로 용해시킨 다음 Atomic Absorption Spectrophotometry(AAS)로 이용하여 장기내 cadmium 함량을 측정하였다.

5) 조직내 metallothionein 함량 측정

Liver와 Kidney를 각각 1 g을 취하여, 생리적 식염수로 세척한 다음, 산분해 방법에 의하여 150°C 가열판에서 유기물을 분해시킨 후, B.T.B지시약 3방울 떨어뜨린후 암모니아수로 pH=9.5가 되도록 중화시키어 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 조직중의 metallothionein은 liver와 kidney을 1 g 취하여 생리적 식염수로 세척한 다음, 0.25 M 설탕용액(sucrose, Sigma)를 가하면서 teflon glass homogenizer를

이용하여 조직을 균질화 되도록 하였으며, 4°C에서 20분간 원심분리(Beckman)하여 세포액(cytosol)을 얻었다. 세포액 0.2 ml를 0.03 M tris-HCl(pH=8.0) 완충용액에 첨가한 후 10 ppm의 CdCl_2 (standard solution) 1 ml로 포화시키고 실온에서 5분간 배양하였다. 여기에 rat RBC hemolysate 0.2 ml를 가하여 과량의 Cd와 MT이외의 모든 bioligand를 제거하고, 100°C 수욕탕에 1분간 정치시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 1,000 g(Beckman, room temperature)로 원심분리하여 상층액을 취하였다.

이상의 rat RBC hemolysate첨가와 열처리 및 원심분리 과정을 3회 반복하여 얻은 시료를 카드뮴농도 측정에 이용하고 최종적인 MT 농도 계산은 카드뮴 6 g 원자가 1 M의 MT(분자량 6,050)과 결합하는 것으로 환산하여 조직 mg당 ug의 농도로 표시하였다.

6) 혈청중의 β_2 -microglobulin 측정

모든 실험동물을 ether로 마취시킨 다음 혈액을 心囊에서 주사기를 이용하여 3 ml씩 채혈하였으며, 3,000 rpm으로 15分間 속심분리하여 혈청을 얻었고, 모든 standard 혈청은 이중으로 검사했다. 측정순서는 첫째, total count와 well은 비워놓고 standards(0, 50, 100, 400, 1000, 4000 μl)를 100 μl 씩 넣고, total count와 각 standards를 넣은 다른 well에 혈청을 10 μl 씩 넣은 후, 혈청을 넣은 well에 Phosphate Buffer를 100 μl 씩 넣고 稀釋시켰다.

측정방법으로 첫째, total count를 포함한 각 well에 β_2 -m ^{125}I reagent solution을 200 μl 씩 넣는다. 둘째, 모든 well에 anti- β_2 -microglobulin monoclonal antibody-coated bead를 하나씩 넣는다. 셋째, 각 tray를 cover seal로 덮는다. 넷째, room temperature 20°C 200 rpm clinical rotator를 이용하여 3시간 동안 incubation 시킨다. 다섯째, incubation이 끝나면 깨끗이 씻고 tray well에 남아 있는 bead를 각각의 assay tube로 옮긴다. 여섯째, bead가 담겨 있는 assay tube를 well type gamma scintillation counter(packard, multi prias 2)로 1분씩 측정한다.

7) 장기의 병리 및 조직검사

실험동물을 ether로 마취시킨 다음에 폐, 간장을 적출하고, 절취된 조직은 10%의 neutral formalin으로 24시간동안 고정시켰고, 12-24시간동안 수선을 시킨 후, 70%, 80%, 90%, 95% 및 100% 에탄올(ethyl alcohol)에 단계적으로 탈수과정을 거쳐 Xylene I, II, III로 투명시킨후 paraffin으로 침투를 시켰다. 그 다음에 paraffin으로 포매를 한 후, 4 μm 두께로 절편하여 hematoxylin-Eosin 염색하였다. 마지막으로 최종탈수

및 Xylene으로 투명 시키고 봉입하였다. 각각의 조직은 광학 현미경으로 검경하였으며, 모두 200배의 배율로 촬영하였다.

8) 통계처리

측정된 자료의 통계처리는 ANOVA-test 및 T-test를 이용하였다

III. 결 과

1. 조직내 중금속 함량

조직내 중금속 농도를 측정한 결과는 Table 1과 같다.

간장의 경우 카드뮴 단독 투여군의 카드뮴 농도는 66.52 ± 11.05 ppm이었으며, 카드뮴과 산두근 저용량(0.55 mg/kg)의 병용 투여군에서는 59.76 ± 44.91 ppm, 카드뮴과 산두근 중용량(1.10 mg/kg) 병용 투여군에서는 54.04 ± 14.91 ppm, 카드뮴과 산두근 고용량(1.65 mg/kg) 병용 투여군에서는 51.01 ± 21.16 ppm으로 산두근의 투여 용량에 비례하여 간장내의 카드뮴 농도가 통계적으로 유의하게 감소하는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

신장내 카드뮴 농도는 카드뮴 단독 투여군의 경우 98.80 ± 23.23 ppm이었으며, 카드뮴과 산두근 저용량(0.55 mg/kg) 병용 투여군에서는 84.84 ± 20.12 ppm으로 산두

근의 투여용량이 증가함에 따라 신장내 카드뮴 농도가 통계적으로 유의한 감소를 보이지는 않았다.

2. 조직내 metallothionein농도

간장조직에서 metallothionein농도를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 간장조직의 metallothionein농도는 카드뮴 단독 투여군의 경우 5.82 ± 3.14 mg/g이었고, 카드뮴과 산두근 저용량(0.55 mg/kg)의 투여시 10.66 ± 6.75 mg/g, 카드뮴과 산두근 중용량(1.10 mg/kg)병용투여시는 15.64 ± 3.97 mg/g, 카드뮴과 산두근 고용량(1.65 mg/kg) 투여시는 11.63 ± 2.42 mg/g으로 산두근 투여용량이 증가함에 따라 간장내 metallothionein의 농도는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 신장조직내 metallothionein의 농도는 카드뮴 단독 투여시 4.29 ± 1.13 mg/g이었으며, 카드뮴과 산두근 저용량(0.55 mg/kg) 투여시 3.18 mg/g, 카드뮴과 산두근 고용량(1.65 mg/kg) 투여시 3.96 ± 2.63 mg/g으로 신장조직내 카드뮴농도는 산두근 투여용량이 증가함에 따라 metallothionein의 농도가 증가하는 경향을 보여주고 있다($p < 0.05$).

3. 혈액학적 변화

카드뮴과 산두근 추출물 투여에 의한 혈액학적 효과를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 혈액중 백혈구

Table 1. Cadmium Concentration in organs after 12th weeks treated with cadmium chloride and radix menispermii (unit: ppm)

구 분	Cd Concentration in organs (ppm)	
	Liver*	Kidney
Group I Control	8.75 ± 2.1	9.27 ± 1.5
Group II CdCl ₂ (4 mg/kg)	66.52 ± 11.05	98.80 ± 23.23
Group III CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (0.55 mg/kg)	59.76 ± 44.91	84.84 ± 20.12
Group IV CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (1.10 mg/kg)	54.04 ± 14.91	74.80 ± 30.85
Group V CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (1.65 mg/kg)	51.01 ± 21.16	81.22 ± 4.88

$p < 0.05^*$.

Table 2. Metallothionein Concentration in organs after 12th weeks treated with cadmium and Radix Menispermii (unit: mg/g)

구 분	Metallothionein Concentration in organs	
	Liver*	Kidney
Group I Control	0.23 ± 0.05	0.45 ± 0.10
Group II CdCl ₂ (4 mg/kg)	5.82 ± 3.14	4.29 ± 1.13
Group III CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (0.55 mg/kg)	10.66 ± 6.75	0.93 ± 0.42
Group IV CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (1.10 mg/kg)	15.64 ± 3.97	3.18 ± 1.99
Group V CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (1.65 mg/kg)	11.63 ± 2.52	3.96 ± 2.63

$p < 0.05^*$.

Table 3. Hematopoiesis of blood after 12th weeks treated with cadmium chloride and radix menispermii

구 분	WBC ($\times 10^3/\mu l$)	RBC ($\times 10^3/\mu l$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)
Group I Control	15.23 ± 2.21	9.46 ± 0.75	12.75 ± 0.27	34.55 ± 2.46
Group II CdCl ₂ (4 mg/kg)	17.04 ± 3.53	7.21 ± 0.56	14.42 ± 0.61	36.94 ± 2.96
Group III CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (0.55 mg/kg)	7.17 ± 3.09	8.39 ± 0.63	15.97 ± 0.96	43.23 ± 2.76
Group IV CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (1.10 mg/kg)	9.10 ± 3.98	7.29 ± 0.93	13.70 ± 0.89	37.20 ± 2.60
Group V CdCl ₂ (4 mg/kg)+radix menispermii (1.65 mg/kg)	10.77 ± 3.19	7.85 ± 0.56	14.47 ± 1.24	38.40 ± 2.26

(WBC) 농도는 카드뮴 단독투여시 $17.04 \times 10^3/\mu\text{l}$ 이었으나, 카드뮴과 산두근 저용량(0.55 mg/kg), 중용량(1.10 mg/kg), 고용량(1.65 mg/kg) 병용투여시 $7.17 \times 10^3/\mu\text{l}$, $9.10 \times 10^3/\mu\text{l}$, $10.77 \times 10^3/\mu\text{l}$ 으로 산두근 투여용량이 증가함에 따라 백혈구의 수치가 점차 증가하는 경향을 보여주었으나, 적혈구(RBC)와 hemoglobin 및 hematocrit는 산두근 투여용량의 증가에 따라 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

4. 혈청중 β_2 -microglobulin농도

Rat의 혈액에서 혈청을 분리하여 β_2 -microglobulin을 측정된 결과 카드뮴 단독 투여군은 $17.6 \pm 4.7 \mu\text{l/ml}$ 이었고, 카드뮴과 산두근 저용량(0.55 mg/kg) 투여군은 $31.5 \mu\text{l/ml}$, 카드뮴과 산두근 중용량(1.10 mg/kg) 투여

군은 $33.6 \pm 1.1 \mu\text{l/ml}$ 카드뮴과 산두근 고용량 투여군(1.65 mg/kg)은 $43.8 \pm 2.6 \mu\text{l/ml}$ 로 산두근 투여용량이 증가함에 따라 혈청중 β_2 -microglobulin의 농도가 증가함에 따라 혈청중 β_2 -microglobulin의 농도가 통계적으로 유의하게 증가하는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

5. 체중변화

대조군과 카드뮴 단독투여군 카드뮴과 산두근(CdCl_2 4 mg/kg), 카드뮴과 산두근(0.55 mg/kg, 1.10 mg/kg, 1.65 mg/kg) 병용투여군의 체중변화를 실험초기에서 12주까지 매주 측정된 결과는 Table 5와 같다. 카드뮴 단독 투여군과 카드뮴 및 산두근 병용투여군 모두 실험 4주 후까지는 체중에 변동이 없으나 약간 감소했지만, 실험 8주후 부터는 실험초기에 비해 증가하는 경향을 보이고 있다. 실험군 별로 비교하면 카드뮴 단독 투여군에 비해 카드뮴과 산두근 저용량(0.55 mg/kg), 중용량(1.10 mg/kg) 병용투여군에서는 체중증가율에서 큰차이를 보이지 않고 있지만, 카드뮴과 산두근 고용량(1.65 mg/kg) 투여군은 뚜렷한 증가 추세를 보이고 있다.

IV. 고 찰

산두근은 두과(豆科 Leguminosae)에 속한 권목(灌木)인 황두근의 근이나 동속근육식물인 땅비사리와 방

Table 4. β_2 -microglobulin in serum after 12th weeks treated with cadmium chloride and raxis menispermi (unit: $\mu\text{l/ml}$)

		β_2 -microglobulin
Group I	Control	12.5 ± 3.2
Group II	CdCl_2 (4 mg/kg)	17.6 ± 4.7
Group III	CdCl_2 (4 mg/kg)+radix menispermi (0.55 mg/kg)	31.5 ± 1.6
Group IV	CdCl_2 (4 mg/kg)+radix menispermi (1.10 mg/kg)	33.6 ± 1.1
Group V	CdCl_2 (4 mg/kg)+radix menispermi (1.65 mg/kg)	43.8 ± 2.6

$p < 0.05$.

Table 5. Mean body weight of rats by week

(): Percent change of body weight

구 분	Body Weight				
	Group I Control	Group II CdCl_2 (4 mg/kg)	Group III CdCl_2 (4 mg/kg)+radix menispermi (0.55 mg/kg)	Group IV CdCl_2 (4 mg/kg)+radix menispermi (1.10 mg/kg)	Group V CdCl_2 (4 mg/kg)+radix menispermi (1.65 mg/kg)
initial	131.2 ± 41.43 (100)	131.2 ± 41.43 (100)	129.8 ± 32.37 (100)	133.0 ± 24.33 (100)	134.8 ± 19.82 (100)
1st week	189 ± 41.51	149.2 ± 38.11	137.4 ± 32.62	147.6 ± 27.12	145.4 ± 20.61
2nd week	200.8 ± 46.79	155.6 ± 35.09	153.6 ± 34.68	157.2 ± 23.50	166.0 ± 22.52
3rd week	238.4 ± 54.55	145.8 ± 34.11	125.2 ± 29.29	137.6 ± 22.59	139.0 ± 21.15
4th week	250.4 ± 59.14 (190.8)	144.2 ± 38.06 (102.1)	119.8 ± 30.26 (92.2)	127.8 ± 24.2 (96.0)	133.4 ± 24.90 (99.0)
5th week	225.2 ± 58.31	141.4 ± 40.10	112.6 ± 31.96	116.0 ± 24.97	118.6 ± 22.58
6th week	261.2 ± 57.20	153.0 ± 40.62	131.25 ± 37.22	105.4 ± 22.09	130.25 ± 8.66
7th week	273 ± 57.89	153.0 ± 38.27	150.25 ± 38.31	117.3 ± 10.72	142.7 ± 11.72
8th week	298.2 ± 60.42 (227.4)	139.2 ± 35.25 (106.1)	138.76 ± 34.22 (106.8)	139.7 ± 17.62 (105.0)	157.7 ± 13.65 (117.0)
9th week	296.17 ± 67.33	171.4 ± 39.49	162.25 ± 38.66	133.0 ± 19.67	183.0 ± 10.82
10th week	315 ± 66.01	181.4 ± 39.21	166.0 ± 39.10	133.7 ± 21.50	195.7 ± 7.09
11th week	313.4 ± 67.45	165.4 ± 47.53	176.5 ± 38.34	136.7 ± 20.84	197.7 ± 4.04
12th week	298.8 ± 66.52 (227.5)	180.8 ± 41.70 (137.8)	166.8 ± 36.88 (128.5)	136.0 ± 19.29 (102.2)	199.7 ± 9.45 (148.1)

기과(Menispermacea)에 속한 다년생 초본인 새모래덩굴의 근(李尙仁著, 1975; 戴新民著, 中華民國 63)으로, 해독, 황결, 중약, 고두근 등(中醫大辭典編纂委員會編, 1982; 辛民教等編, 1982)으로도 불리운다.

산두근의 氣味는 唐의 書(宋·唐慎微著, 中華民國 65)에 “甘寒無毒”한다고 하였으나 李의 書(明·李時珍, 1982)에서는 “苦寒無毒”이라 한 이후로 그 氣味는 苦寒無毒(明·李時珍, 1982) 혹은 有毒(中國本草圖錄編輯委員會, 1988)하고, 心, 肺, 胃, 大腸經(上海中醫學院編, 1975; 戴新民著, 中華民國 63)에 入하여 解諸藥毒, 清熱解毒, 清利咽喉, 止痛, 消脹腫毒 등(葉顯純主編, 1988; 江蘇新醫學院編, 1977)의 효능이 收載되어 있으며, 火毒後瘡瘍의 要藥으로 열독에 의한 咽喉腫痛, 喉癰 등의 질환(吳家鏡編)과 腹脹喘滿, 이질, 厥心腹痛, 五種齒痛, 蛇蟲咬傷, 犬咬傷 등(長春中醫學院革命委員會編, 1970)의 症床에 단독으로 또는 隨證加減하여 응용하기도 한다.

한약제를 이용한 중금속해독에 관한 최근 연구로는 이(宋·唐慎微著, 中華民國 65; 明·李時珍, 1982; 葉顯純主編, 1988; 江蘇新醫學院編, 1977)가 감두탕이 DDVP 급성중독과 鉛中毒에 예방효과가 있다고 보고하였으며, 이(이기남, 유일수, 이종섭, 1994)는 자연산 물을 이용한 니켈독성의 해독에 관한 연구에서 양금화와 알로에가 니켈해독을 기대할 수 있다고 보고하였으며, 이(이종섭 등, 1994)는 니켈 급성중독에 인삼사포닌이 니켈 독성에 대한 방어효과의 가능성을 확인할 수 있다고 보고하였다.

또한 cadmium 독성에 대한 연구로는 Worker 등 (Worker 등, 1961)에 의하여 보고되었는데, 비타민 D와 칼슘함량이 적은 사료를 병아리에게 경구투여한 결과 위장관을 통한 cadmium 흡수가 증가함을 관찰하여 식이중 칼슘량이 cadmium 축적량을 감소시킨다고 하였으며, 이(이종섭 등, 1994)는 수종(감초, 측백나무, 감나무, 졸참나무, 소나무, 밤나무, 상수리, 쑥)의 한약제를 생쥐에 투입한 결과 cadmium 중독 경감효과가 있다고 보고하였다. 그밖에 이(李守根, 1994)는 복령이 신장에 축적된 cadmium 량 감소에 영향을 미친다고 보고하였으며, 임(林國煥 등, 1987)은 우유가, 이등(이병설 등, 1995)은 미나리가, 안 등(안령미 등, 1991)은 부추가 각각 cadmium 독성을 감소시킨다고 연구한 바 있다.

실험동물의 체중변화는 중금속에 폭로시 개체의 형태적, 기능적, 장애를 추정하는 독성 평가시 중요한 방법중의 하나로서 Ralph(Ralph 등, 1987)는 니켈 투여시 투여량에 비례하여 실험동물의 체중이 減을 보고하였고, Dieter 등(Dieter 등, 1988)은 니켈 투여가 체중의 감

소와 더불어 간장, 신장, 비장 그리고 胸腺의 무게를 감소시킴을 보고하였다.

본 실험에서는 cadmium 단독투여군과 cadmium에 산두근 추출물(0.55 mg/kg, 1.10 mg/kg, 1.65 mg/kg)을 병용 투여한 군의 체중변화를 실험초기부터 12주시점까지 매주 시점에서 측정된 결과, cadmium 단독 투여군에 비해 cadmium과 산두근 병용투여군에서 약간 증가율을 보이고 있으나 통계적으로 유의성은 발견할 수 없었으며, 정(정경진, 1994)은 본 실험과 동일한 조건 하에서 산두근과 카드뮴을 백서를 대상으로 투여한 결과 본 실험결과와 같이 실험 2주시점에서 유의한 체중 증가를 볼 수 없었다. 유 등(류희영 등, 1992)은 백서를 이용하여 인삼사포닌이 cadmium의 면역독성에 미치는 영향에서 cadmium 1 mg/kg을 투여한 군과 cadmium과 인삼사포닌 10, 50, 100 mg/kg을 混合하여 8주간 투여하여 체중변화를 관찰한 결과 모든 실험군이 2주째에 매우 적은 체중증가를 나타냈고 5주째에는 군간의 차이를 나타냈으나 6주이후부터 차이가 적어 본 실험의 결과와 일치하였다. 그러나 車(차철환, 1988)의 연구결과에 의하면 cadmium 0.5 mg/kg를 복강내 투여하여 12주간 관찰한 결과 생리식염수 투여군에 비하여 체중감소가 있었음을 확인해 본 실험과 다른 결과를 보고하였다. 이는 실험기간, cadmium 투여량, 실험재료, 실험조건 등의 차이로 기인되지 않나 생각되며, 산두근抽出液과 체중변화에 대한 정확한 관계를 규명해야 할 것이라고 사료된다.

조직내 cadmium 농도를 살펴보면 간장에서에서 산두근 투여용량에 비례하여 cadmium 농도가 유의한 감소($P < 0.05$)를 나타냈는데, 이런 결과는 안(안령미 등, 1991)과 유 등(류희영 등, 1992), 姜 등(姜英美 등, 1990)의 실험결과와 일치하였다. 이는 cadmium의 標的臟器(豫防醫學과 公衆保健 編輯委員會, 1978)로서 산두근 추출액이 간장과 신장에 축적된 독성물질을 해독하고 있다는 것을 示唆해 주는 것으로 사료된다. 그러나 신장에서는 유의하게 감소하는 경향을 보이지 않았다.

본 실험에서 간장조직내 metallothionein의 농도는 산두근추출액의 투여용량이 증가함에 따라 유의($P < 0.05$)하게 증가하였는데, 이는 이(李守根, 1994)의 보고와 일치하였으나, 정(정경진, 1994)의 보고와는 상이하였으며 신장조직내 metallothionein 농도도 간장조직에서와 같은 경향을 보였다. 이는 Michael(Michael, 1984) 등의 투여물질과 체내조직에 따라 metallothionein 생성량이 크게 변화된다는 연구결과와 일치하며, 산두근추출액이 간장에서 cadmium을 貯藏, 運

搬, 代謝시킴으로써 cadmium 중독에 대한 방어효과 (Goering; Goyer, 1986; Dunn, 1987)를 나타내는 것으로 사료된다. Wilson 등에 의하면 Anacmia는 카드뮴을 식이시킨 실험동물들의 2세에서 나타나는 보편적현상으로 보고하였고, 동물에 식이 노출후 감소된 haemoglobin농도와 감소된 haematocrit치는 카드뮴 독성의 초기 징후라고 보고하였다.

본 실험에서는 haemoglobin 및 haematocrit치 등 혈액학적 측정치가 실험 그룹에 따라 유의한 차이를 보이지 않았는데 이는 투여한 카드뮴의 종류와 투여용량 및 투여기간 등의 실험조건이 동일하지 않았음에 기인된 것으로 판단된다.

이상에서 살펴본 바, 산두근추출물이 간장에서 cadmium 축적량의 감소와 신장에서 metallothionein의 함량을 증가하는 경향을 보여주었으며, 간장과 신장에서 조직학적 회복능력이 있는 것으로 판단된다. 그러나 산두근 추출물의 어느 성분에 의해서 cadmium 축적량이 감소되었는지는 알 수 없었으며, 향후 산두근 추출액의 성분을 분석하여 cadmium과 착물을 형성하는 물질을 分離함으로써 그 기전을 규명할 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

카드뮴 독성에 대한 산두근 추출물의 효과를 알기 위해 흰쥐를 대상으로 카드뮴(4 mg/kg)과 산두근 추출물(0.55 mg/kg, 1.10 mg/kg, 1.65 mg/kg)을 사료에 혼합하여 12주간 식이시켜 체중의 변화, 간장, 신장조직내 카드뮴 축적량, metallothionein량, 혈청중 β_2 -microglobulin량, 백혈구, 적혈구, hemoglobin, hematocrit 値 등을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중 변화를 관찰한 결과 실험 8주후부터 카드뮴과 산두근 고용량(1.65 mg/kg)투여군에서 카드뮴 단독투여군에 비해 뚜렷한 체중 증가율을 보였다.

2. 조직내 카드뮴 농도는 간장조직에서 카드뮴 단독투여군에 비해 카드뮴과 산두근 병용투여군에서 낮은 축적량을 보였고, 산두근 추출물 투여 용량이 증가함에 따라 카드뮴농도가 통계적으로 유의하게 감소하는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

3. 혈청중 β_2 -microglobulin의 농도는 산두근 추출물 투여용량이 증가함에 따라 유의하게 증가하는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

4. 혈액중의 백혈구, 적혈구-hemoglobin, hematocrit의 농도를 측정한 결과 카드뮴 단독 투여군에 비해 카드뮴과 산두근 병용 투여군에서 통계적으로 유의

한 차이를 보이지 않았다.

5. 조직내 metallothionein의 농도는 간장조직의 경우 산두근 추출물의 투여 용량이 증가함에 따라 카드뮴 단독 투여군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았으나, 신장조직에서는 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$).

6. 광학 현미경 관찰-간장조직의 광학현미경적 관찰은 대조군의 경우 간소엽사이에 핵은 둥글고, 중앙에 위치하며 다각형인 정상외 간세포가 관찰되었고 (Photo. 1), 카드뮴 단독투여군은 소엽구조가 흐뜨러지고, 간문맥내 염 증세포침윤(portal inflammation), 중심정맥확장은 뚜렷이 보였으나 간세포괴사는 미약하였다(Photo. 3).

카드뮴과 산두근 저농도 병용투여군에서는 담관을 중심으로 단핵구 침윤 및 문맥확장, 변성된 간세포가 보였지만, 카드뮴 투여군보다 간세포손상이 더 적었고 (Photo. 5) 중간농도에서는 중심정맥확장 및 정도의 염증이 잔존되었으나 간세포괴사 및 변성은 저농도에 비해 사라졌고(Photo. 7), 고용도인 경우 간세포 손상이

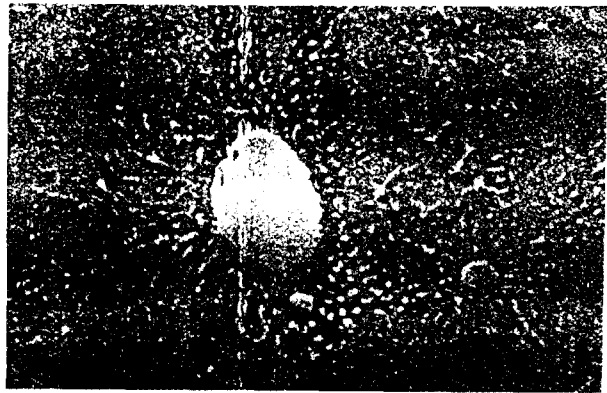


Photo. 1. Photomicrograph of the Liver of Control Rat ($\times 100$).

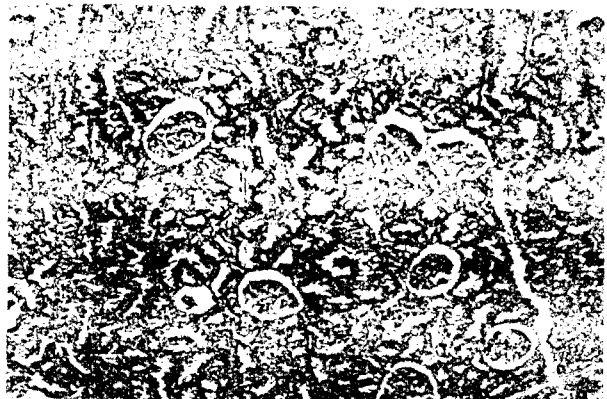


Photo. 2. Photomicrograph of the Kidney of Control Rat ($\times 100$).

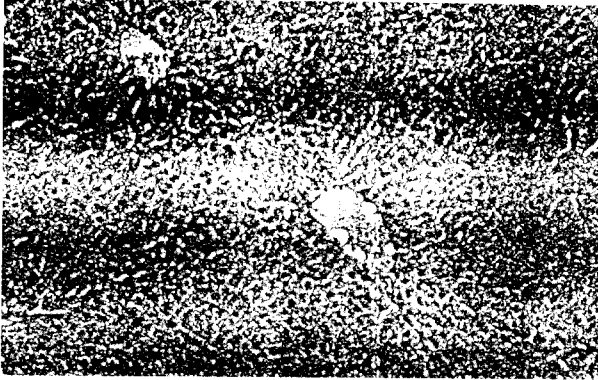


Photo. 3. Photomicrograph of the Liver of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg body Weight (×100).

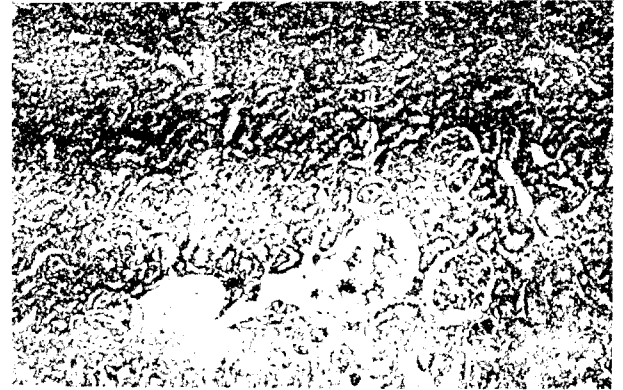


Photo. 6. Photomicrograph of the Kidney of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Radix Menispermii 0.55 mg/kg Body Weight (×100).



Photo. 4. Photomicrograph of the Kidney of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg body Weight (×100).

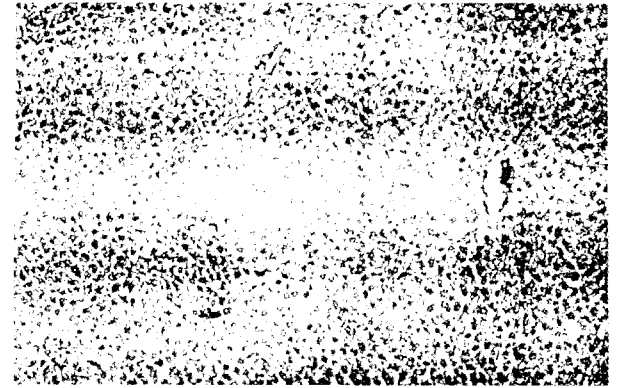


Photo. 7. Photomicrograph of the Liver of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Radix Menispermii 1.10 mg/kg Body Weight (×100).



Photo. 5. Photomicrograph of the Liver of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Radix Menispermii 0.55 mg/kg Body Weight (×100).



Photo. 8. Photomicrograph of the Kidney of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Radix Menispermii 1.10 mg/kg Body Weight (×100).

가장 적게 관찰되었는데 세포변성 및 염증이 거의 사라지고 일부중심정맥확장만 잔존되어 대조군과 유사하였다(Photo. 9).

대조군 신장은 Photo. 2에서 처럼 피질(cortex)과 수질(medulla)의 두층으로 구분되며 사구체, 근위세관 및 원위세관 등이 정상소견을 보였고, 카드뮴 단독투여군

은 Photo. 4와 같이 수질층전체와 피질층의 사구체는 특이한 변화가 없었으나 근위 및 원위세뇨관의 괴사 및 파괴와 주위간질조직의 염증세포 침윤이 나타났다. 카드뮴과 산두근 저농도 병용투여군에서는 세뇨관 손상으로 상피세포의 부종, 경도의 염증세포 침윤이 관

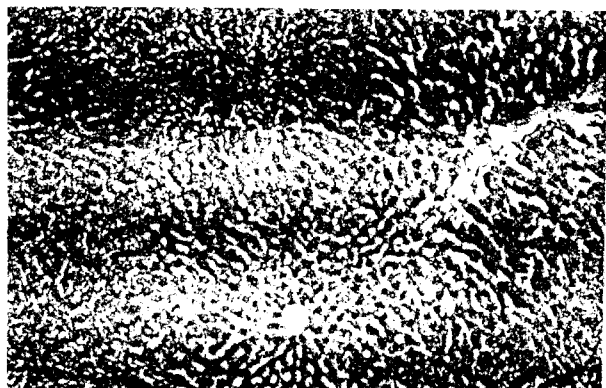


Photo. 9. Photomicrograph of the Liver of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Radix Menispermis 1.65 mg/kg Body Weight (×100).



Photo. 10. Photomicrograph of the Kidney of Rat treated with CdCl₂ 4.0 mg/kg and Radix Menispermis 1.65 mg/kg Body Weight (×100).

찰되었고 혈관충혈이 나타나 카드뮴 단독투여군과 유사한 정도로 나타나 해독작용이 거의 없었다(Photo. 6).

산두근 중농도투여(Photo. 8)군의 경우 염증세포침윤은 현저히 감소되고 울혈이 잔존되었으나 고농도의 경우 저농도보다 신장세포손상이 현저히 감소하여 혈관충혈이외에는 대조군과 거의 유사하였다(Photo. 10).

참고문헌

Degrave N. (1981): Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effect of cadmium. *Mutation Research*, **86**, 115.

Dieter, M.P., Jameson, C.W., Tucker, A.N., Luster, M. I., French, J.E., Hong, H.L. and Boorman, G.A. (1988): Evaluation of tissue disposition myelopoietic and immunologic response in mice after long-term exposure to nickel sulfide in the drinking water. *J. of Toxicol. and Environ. Health*, **24**, 357-372.

Dunn, M.A., Blalock, T.L. and Cousins, R.J. (1987): Metallothionein. *Proc. Soc. Exptl. Bio. Med.*, **185**,

107.

Goering, P.L. and Klaassen, C.D.: Tolerance to cadmium induced.

Goyer, R.A. (1986): Toxic effects of metals. In Klaassen C.D., Amdur M.O. and Doull J. (eds.), Casarett and Doull's Toxicology. 3rd Ed., Macmillian Publishing Co., New York.

Fassett, D.W. (1980): Metal in the environment. New York, Academic press.

Michael, T.M., Waalkes, W.P. and Klaassen, C.D. (1984): Distribution of cadmium after oral administration of cadmium-thionein to mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 237.

Nutrient Requirement of Laboratory Animals National Academy of Science: Nutrient Requirements of Domestic Animal, No. 10, 1990.

Oh, S.H., P.D. and Deagen, J.T. (1981): *J. Toxicol. Environ. Health*, p. 7, p. 547.

Page, A.L., El-Amamy, M.M. and Chang, A.C. (1986): Cadmium in the environment and its entry into terrestrial food chain crops. In handbook of experimental pharmacol., **80**, 33.

Piscator., (1966) a: Peterson *et al.*, (1969): Peterson and Berggard, (1971); Lauwerys *et al.*, (1974) a; Bwrnard *et al.*, (1976, 1982).

Piscator M. (1985): Dietary exposure to cadmium and health effects: Impact of environmental changes. *Environm. Health Persp.*, **63**, 127.

Ralph, J., Smialowicz, Ronald R. Rogers, Marie, M. Riddle, Robert W. Luebke and Lela D. Fogelson (1987): Effects of Manganese, Calcium, Magnesium and Zinc on Nickel-induced Suppression of Murine Natural Killer Activity. *J. of Toxicol. and Environ. Health*, **20**, 67-80.

Worker, N.A. and B.B. Mogicovsky (1961): Effect of Vitamin D on the utilization of Zinc, Cadmium and Mercury in the chick. *J. Nuir.*, **75**, 222-224.

江蘇新醫學院編 (1977): 中藥大辭典(上冊), 上海科學技術出版社, pp. 181-183.

姜英美, 李容旭 (1990): 白鼠에서 셀레늄 및 亞鉛이 카드뮴 毒性에 미치는 影響, 韓國環境衛生學會誌, **16**(1), 29-43.

科學百科辭典出版社 (1991): 藥草의 成分과 利用, 일월서각, p. 344.

顏正華主編 (1991): 中藥學, 人民衛生出版社, pp. 186-188.

류희영, 김영구, 정문호 (1992): 인삼사포닌이 카드뮴의 면역 독성에 미치는 영향 한국환경위생학회지, **18**(2), 125-134.

明·李時珍 (1982): 本草綱目, 人民衛生出版社, p. 1302.

常敏毅 編著 (1987): 抗癌本草, 湖南科學技術出版社, pp. 28-29.

上海中醫學院編 (1975): 中草藥學, 商務印書館 香港分館, pp. 165-167.

宋·唐慎微著: 重修政和經史證類備用本草, 南天書局有限公

- 司, p. 276, 中華民國 65.
- 時逸人編著: 中國藥物學, 台聯國風出版社, pp. 78-79.
- 辛民教等編 (1982): 漢藥臨床應用, 成輔社, pp. 160-161.
- 안령미, 김완태, 이희성 (1991): 카드뮴독성에 대한 부추의 방어효과, 한국환경위생학회지, **17**(2), 102-113.
- 吳家鏡編: 中藥性辭典, 香港廣新出版社, p. 85.
- 葉顯純主編 (1988): 中醫基礎理論系列叢書 中藥學(上冊), 上海中醫學院出版社, pp. 179-181.
- 豫防醫學과 公衆保健 編輯委員會 (1978): 豫防醫學과 公衆保健, 癸丑文化社, pp. 300-302.
- 李宰炯 (1994): 카드뮴 毒性에 대한 흰쥐 臟器 Metallothionein의 防禦效果에 관한 研究, 慶熙大學校 大學院 博士學位論文, p. 73.
- 李仙童 (1988): DDVP急性中毒 Mouse에서 甘豆湯의 豫防效果에 관한 研究, 서울대학교 保健大學院 碩士學位論文.
- 이기남, 유일수, 이종섭 (1994): 自然産物을 利用한 니켈 毒性의 解毒에 관한 研究, 韓國環境衛生學會誌 **20**(3), 85-95.
- 李樹猷 編著: 現代中藥學(全二冊), 正中書局, p. 277-280, 中華民國 59.
- 李尙仁著 (1975): 本草學, 修書院, pp. 523-524.
- 李守根 (1994): 복령을 이용한 마우스 臟器내 Cadmium 解毒에 관한 研究, 圓光大學校 大學院 碩士論文.
- 李仙童 (1993): 흰쥐에서 亞急性 鉛毒性에 대한 甘豆湯의 豫防效果에 관한 研究, 서울대학교 大學院 博士學位論文.
- 李鍾燮 (1991): 니켈 急性中毒에 對한 人蔘 사포닌의 防禦效果 研究, 서울대학교 大學院 博士學位論文.
- 이종섭, 한두석, 백승화, 유일수 (1994): 마우스 장기내의 Cadmium 축적에 미치는 수종생약의 영향, Korean J. Toxicol. **10**(2), 169-179.
- 이병설, 정문호, 두옥주 (1995): 미나리에 의한 수종 중금속 cd와 pb의 제거에 관한 연구, **21**(1), 47-55.
- 林國煥, 金榮煥, 金順德 (1987): 白鼠의 Cadmium 中毒에 미치는 칼슘과 牛乳의 防禦效果, 醫學技術論集, **15**(1), 68-74.
- 長春中醫學院革命委員會編 (1970): 吉林中草藥, 吉林人民出版社, p. 212.
- 陸呂洙外編著 (1982): 韓藥의 藥理·成分·臨床應用, 癸丑文化社, pp. 440-441.
- 傳統醫學研究所編 (1994): 本草藥材圖鑑, 成輔社, p. 201.
- 周風梧主編 (1981): 中藥學, 山東科學技術出版社, pp. 197-198.
- 中國本草圖錄編輯委員會 (1988): 中國本草圖錄卷一, 商務印書館(香港), p. 82.
- 中醫大辭典編纂委員會編 (1982): 中醫大辭典中藥分冊, 人民衛生出版社, p. 31.
- 陳新謙, 金有豫編 (1951): 新編藥物學, 人民衛生出版社, pp. 198-199.
- 정경진 (1994): 산두근 추출액이 흰쥐의 급성 Cadmium 중독에 대한 해독효과, 원광대학교 대학원 박사학위논문, p. 13-14.
- 戴新民著: 中國藥材學, 啓業書局, p. 413, 中華民國 63.
- 차철환: 마늘이 백서의 중금속중독에 미치는 영향에 관한 연구, 대한보건협회지, **14**(1), 3.
- 崔樹德主編 (1989): 中藥大全, 黑龍江科學技術出版社, pp. 291-292.