

식이내 Cysteine 수준이 흰쥐의 카드뮴과 납중독에 미치는 영향

류 정 미 · 김 미 경

이화여자대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Cysteine Level on Cadmium and Lead Toxicity in Rats

Ryu, Jeong Mi · Kim, Mi Kyung

Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul, Korea

ABSTRACT

This study has been investigated the potential of increased dietary cysteine to alter the effects of cadmium and lead on tissue and bone metal concentrations, excretion and tissue metallothionein (MT) concentrations. Fifty-four male rats of Sprague-Dawley strain weighing 149 ± 17 g were divided into 9 groups according to body weight. Nine experimental diets with different cadmium (0ppm, 400ppm), lead (0ppm, 710ppm) and cysteine (0.06%, 0.45%, 0.90%) levels were given to rats for 30 days. Food intake, weight gain, F.E.R, and weights of liver, kidney and femur were decreased in cadmium supplied groups than in cadmium free groups. Urinary and fecal cadmium excretions were increased and MT synthesis was induced in liver, kidney and small intestine in cadmium supplied groups. In lead supplied groups, weight gain and F.E.R were decreased. With cysteine supplementation in cadmium supplied groups, weight gain, F.E.R, and weights of liver, kidney and femur were increased. Cadmium excretion in feces and MT concentrations in liver and kidney were also increased with cysteine supplementation. In lead supplied groups, there was no significant increase in food intake, weight gain and F.E.R with cysteine supplementation. Lead excretion in feces was increased in cysteine supplemented groups. In conclusion, effect of cadmium administration was more toxic than lead administration. Cysteine alleviated cadmium and lead toxicity by increasing metallothionein concentration and fecal excretions of heavy metals. Especially, effect of cysteine supplementation was more effective in cadmium groups than in lead groups. Effect of cysteine supplementation was not different with level of cysteine supplementation in both cadmium and lead groups. (*Korean J Nutrition* 29(6) : 597~607, 1996)

KEY WORDS : cysteine · cadmium · lead · metallothionein.

서 론

환경오염문제가 심각해지면서 Cd, Pb, Hg 등 중금속
채택일 : 1996년 4월 22일

에 의한 오염과 이로 인한 인체의 중독현상이 사회문제로 대두되고 있다. 중금속은 미량일지라도 오랜 기간 계속적으로 섭취할 경우에 점차적으로 체내 특정기관의 조직 내에 축적되어서 비정상적인 체내 대사를 유발할 가능성이 높아진다¹⁾.

Cadmium(Cd)은 환경에 존재하는 인체에 가장 유독한 미량 원소들 중 하나로 일단 체내에 들어온 Cd는 쉽게 배설되지 않으며, 생물학적 반감기가 약 16년으로 대단히 길므로 나이가 들수록 Cd의 체내 축적은 증가하게 된다²³⁾. Cadmium이 체내에 축적되면 체중감소, 빈혈, 간·신장 등의 조직의 형태학적 변화와 고혈압, 단백질, 골연화증, 중추신경계 이상과 내분비장애 등의 중독증세를 보인다⁴⁵⁾.

Lead(Pb) 또한 환경오염성 중금속 중의 하나로, 소화기관과 호흡기관을 통하여 인체 내에 들어오게 된다⁶⁾. 인체에 Pb가 축적되었을 때는 체중감소, 빈혈의 발생, 간, 신장등 장기의 생화학적, 형태학적 변화와 면역능력의 감소, 뇌의 손상과 같은 중독현상을 일으키게 되고, 연령, 영양상태 및 식이 조성이 Pb의 흡수 및 조직내 축적에 영향을 준다고 한다⁷⁸⁾. 이와 같이 Cd과 Pb가 환경에 존재하면서 동시에 오염될 가능성이 높아지고 있다. 그러나 여러식이인자들의 Cd 또는 Pb 각각에 대한 중독 및 제독효과를 연구한 보고들은 있으나 두 중금속의 제독을 위한 식이인자의 영향과 그 기전을 동시에 비교한 실험은 없었다.

Metallothionein(MT)은 분자량이 6,000~7,000정도이며, cysteine이 풍부한 저분자량 단백질이다⁹⁾. Metallothionein은 7개의 metal binding site를 가지고 있어서 여러 금속이온의 대사를 조절하고, 중금속과 결합하여 체내의 free상태의 reactive 중금속이 조직내 sensitive site에 결합되어 독성을 일으키는 것을 막아주기 때문에¹⁰⁾ 중금속으로 인한 조직의 손상을 막는다고 한다. Metallothionein은 체내 어디에서나 합성될 수 있으나, 간, 신장에서 가장 많이 합성되며, 정상조건 하에서는 매우 낮은 농도로 생체 내에 존재하다가 Cd, Pb 등의 metal에 의해 합성이 촉진되어 여러 장기에서의 함량이 높아진다는 보고가 있다¹¹⁾. 그러나 metal의 종류에 따라서, MT inducer로서의 효과가 다르고, MT와 결합하는 친화력이 다르기 때문에¹²⁾ MT의 중금속 제독효과는 metal의 종류에 따라 다를 것으로 생각된다.

Cysteine(Cys)은 세포 내의 중금속을 격리시키고, 소장에서의 중금속 흡수를 감소시키는 MT의 구성성분으로서 중금속의 독성을 완화시킬 수 있으리라고 생각한다. 박주연¹³⁾의 선행된 연구에서 Cd에 노출되었을 때, 15% casein diet에 cysteine(0.45%)를 보충한 결과, 체중 증가량, 식이효율이 높았으며, Cd으로 인한 장기 무게의 감소가 회복되었으며, MT합성능력과 뇨와 변으로의 Cd배설량이 많아 효과적으로 Cd를 제독하였다고 한다. 한편 고단백식이 Cd중독완화에 효과적이라는 보고¹⁴⁾가 있으며, 이 효과가 식이내 단백질 수준의 영향

인지 Cys수준의 영향인지는 아직 확실하지 않다.

이에 본 연구에서는 선행실험을 바탕으로 하여 Cys수준을 좀더 높은 수준으로 보충하였을 때 중금속 제독효과에 더 효과가 있는지를 규명하고, 혈액을 비롯한 장기내의 Cd, Pb농도, 간·신장·소장의 MT농도, 뇨와 변을 통한 Cd, Pb배설량을 측정함으로써 Cys수준에 따른 Cd과 Pb대사에 대한 제독효과 정도를 알아보고자 하였으며, 아울러 Cd과 Pb의 원자량 차이를 감안하여 이들의 총원자수를 같은 수준으로 한 식이를 공급하였을 때 어느 중금속이 더 중독 정도가 강한지를 비교하고, Cys이 어느 중금속의 중독 완화에 더 효과가 있는지를 살펴보고자 한다.

연구방법

1. 실험 동물의 사육

평균체중이 149±17g 인 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐 54마리를 실험 시작하기 전 1주간 고형식으로 적응시킨 뒤 체중에 따라 난괴법(Randomized-block Design)에 의하여 Table 1과 같이 6마리씩 9군으로 나누어 30일간 사육하였다.

실험동물은 한마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였으며, 물과 식이는 제한 없이 먹게 하였고, 본 실험에 사용한 식이의 구성 성분은 Table 2와 같다.

Cadmium 공급은 식이에 cadmium chloride(CdCl₂, Showa Chemical, Japan)를 혼합하여 공급하였으며,

Table 1. Classification of experimental groups

| Diet groups ¹⁾ | Cadmium level(ppm) | Lead level (ppm) | Cysteine level ²⁾ (%) |
|---------------------------|--------------------|------------------|----------------------------------|
| NCys6 | 0 | 0 | 0.06 |
| NCys45 | 0 | 0 | 0.45 |
| NCys90 | 0 | 0 | 0.90 |
| CdCys6 | 400 | 0 | 0.06 |
| CdCys45 | 400 | 0 | 0.45 |
| CdCys90 | 400 | 0 | 0.90 |
| PbCys6 | 0 | 710 | 0.06 |
| PbCys45 | 0 | 710 | 0.45 |
| PbCys90 | 0 | 710 | 0.90 |

- 1) NCys6 : none Cd+none Pb+cysteine(0.06%)
 NCys45 : none Cd+none Pb+cysteine (0.45%)
 NCys90 : none Cd+none Pb+cysteine(0.90%)
 CdCys6 : Cd 400ppm+none Pb+cysteine(0.06%)
 CdCys45 : Cd 400ppm+none Pb+cysteine(0.45%)
 CdCys90 : Cd 400ppm+none Pb+cysteine(0.90%)
 PbCys6 : none Cd+Pb 710ppm+cysteine(0.06%)
 PbCys45 : none Cd+Pb 710ppm+cysteine(0.45%)
 PbCys90 : none Cd+Pb 710ppm+cysteine(0.90%)

- 2) Cysteine level in diet=added cysteine level+cysteine level in casein

Table 2. Composition of experimental diets(per Kg diet)

| Ingredient | NCys6 | NCys45 | NCys90 | CdCys6 | CdCys45 | CdCys90 | PbCys6 | PbCys45 | PbCys90 |
|--|--------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|---------|---------|
| corn starch(g) | 703.14 | 699.24 | 694.74 | 702.74 | 698.84 | 693.94 | 702.43 | 698.53 | 693.32 |
| casein(g) | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| L-cysteine(g) | - | 3.9 | 8.4 | - | 3.9 | 8.4 | - | 3.9 | 8.4 |
| corn oil(g) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| CdCl ₂ (g) | - | - | - | 0.4 | 0.4 | 0.4 | - | - | - |
| Pb(CH ₃ COO) ₂ (g) | - | - | - | - | - | - | 0.71 | 0.71 | 0.71 |
| salt mixture ¹⁾ (g) | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Vit A,D mixture ²⁾ (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Vit E,K mixture ³⁾ (ml) | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| water soluble vitamin ⁴⁾ (mg) | 2.86 | 2.86 | 2.86 | 2.86 | 2.86 | 2.86 | 2.86 | 2.86 | 2.86 |
| Vit B ₁₂ ⁵⁾ (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Total sulfur amino acid(g) | 4.5 | 8.4 | 12.9 | 4.5 | 8.4 | 12.9 | 4.5 | 8.4 | 12.9 |
| Total cysteine(g) | 0.6 | 4.5 | 9.0 | 0.6 | 4.5 | 9.0 | 0.6 | 4.5 | 9.0 |

- 1) Salt mixture(g / Kg diet) : Calcium phosphate dibasic 21.5 ; Sodium chloride 2.96 ; Potassium citrate monohydrate 8.8 ; Potassium sulfate 2.08 ; Magnesium oxide 0.96 ; Manganous carbonate 0.14 ; Ferric citrate 6H₂O 0.24 ; Zinc carbonate 0.064 ; Cupric carbonate 0.012 ; Potassium carbonate 0.0004 ; Sodium selenite 0.0004 ; Chromium potassium sulfate 0.0002 ; Sucrose, finely powdered to make 40g
- 2) Vitamin A, D mixture(mg / ml corn oil) : Vitamin A 0.1 ; Vitamin D 0.01
- 3) Vitamin E,K mixture(mg / ml corn oil) : *α*-Tocopherol acetate 25 ; Menadione 1
- 4) Water soluble mixture(mg / Kg diet) : Choline chloride 2000 ; Thiamine hydrochloride 10 ; Riboflavin 20 ; Nicotinic acid 120 ; Pyridoxine 10 ; Calcium pantothenate 100 ; Biotin 0.05 ; Folic acid 4 ; Inositol 500 ; Para-Aminobenzoic acid 100
- 5) Vitamin B₁₂(mg / ml distilled water) : Vitamin B₁₂ 0.01

Cd수준은 식이무게의 0.04%인 400ppm으로 정하였다. 납 공급은 식이에 lead acetate (Pb(CH₃COO)₂ · 3H₂O, Wako Pure Chemical, Japan)를 혼합하여 공급하였으며, Pb수준은 식이내 Cd와 Pb의 원자수가 같도록 하여 Cd수준의 400ppm을 기준으로 식이무게의 0.071%인 710ppm 으로 정하였다.

Cysteine(Cys)은 L-Cysteine(Showa Chemical, Japan)을 식이에 혼합하여 공급하였고, 식이로의 첨가 수준은 박주연¹³⁾의 실험에서 선행되었던 Cys수준을 토대로 15% casein diet에 식이무게의 0.45%와 그 두배 수준인 0.90%가 되도록 Cys를 보충하여 Cys수준을 달리하였다. 15% casein diet에는 0.06%의 Cys이 함유되어 있기 때문에 Cys수준을 0.45%, 0.90%를 만들기 위해서 각각 0.39%, 0.84%를 첨가하였다. 그러므로, 각 실험식이의 Cys수준은 0.06%, 0.45%, 0.90%으로 달랐다.

실험기간 동안 식이 섭취량은 매주 3회 일정한 시간에 측정하였고, 체중은 일주일에 한번 일정한 시간에 측정하였으며, 식이효율은 계산하였다.

2. 각종 장기, 혈액, 뇨, 변의 채취

뇨와 변은 실험 동물을 희생시키기 3일전에 stain-

less steel 대사장에 옮겨 24시간동안 채취하였다. Cadmium군의 Cd보유율 측정을 위해 실험 종료전 5일 동안 10,000ppm의 CdCl₂용액 0.2ml를 하루에 한번 일정한 시간에 tube feeding하였고, Pb군의 Pb보유율을 측정하기 위해서 실험종료전 5일동안 17,744ppm의 Pb(CH₃COO)₂ · 3H₂O용액 0.2ml를 하루에 한번 일정한 시간에 tube feeding하였으며, tube feeding으로 인한 stress를 고려하여 대조군에도 달이온 증류수를 tube feeding하였다.

실험기간의 종료 전 12시간을 굶긴 뒤 ethylether로 마취하고, 단두로 희생시켜 혈액을 채취하였다. 혈액 채취 직후 hematocrit 값은 packed red cell volume의 백분율로 측정하였다. 또, 혈액의 일부는 heparin으로 처리된 시험관에 받아 Cd와 Pb농도를 측정하기 위해 냉동 보관하였으며, 나머지 혈액은 시험관에 받아 2,000rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 creatinine농도를 측정하기 위해 냉동 보관하였다.

혈액 채취 즉시 간, 신장, 소장 고환을 떼어 내어 무게를 측정하였고, 오른쪽 뒷다리의 대퇴골을 채취하여 향량이 될때까지 건조시켜 무게를 측정하였다. 간과 신장, 소장의 일부는 metallothionein(MT)측정을 위해 -70

℃의 deep freezer에 보관하였고, 나머지는 Cd와 Pb농도측정을 위해 -20℃의 냉동고에 보관하였다. 고환과 대퇴골도 Cd와 Pb농도를 측정하기 위해서 냉동 보관하였다.

3. 혈액, 간, 신장, 소장, 고환, 대퇴골, 뇨, 변의 Cd와 Pb농도 측정

혈액과 뇨의 Cd와 Pb농도는 Zinterhofer법¹⁵⁾에 의해 atomic absorption spectrophotometer(AAS, Perkin-Elmer Co., Model 2380)을 이용하여 Cd농도는 파장 228.8nm에서, Pb농도는 파장 283.3nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였고, 간, 신장, 소장, 고환, 대퇴골, 변의 Cd와 Pb농도는 시료를 110℃ drying oven에서 향량이 될때까지 건조시켜서, 550℃ muffle furnace에서 회화시켜 Yeager법¹⁶⁾에 의하여 AAS로 Cd의 농도는 파장 228.8nm에서, Pb농도는 파장 283.3nm에서 측정하였다.

4. 간, 신장, 소장의 metallothionein농도 측정

간, 신장, 소장의 MT농도는 Scheuhammer의 변형법¹⁷⁾¹⁸⁾에 따라 준비한 RBC hemolysate를 이용하여 cadmium/hemoglobin affinity assay방법¹⁹⁻²¹⁾으로 측정하였다.

5. 뇨 중 단백질 배설량, 뇨와 혈청의 creatinine 농도 측정

뇨 중 단백질 배설량은 Lowry 방법²²⁾을 이용하여 spectrophotometer(Spectronic 301, Miltonroy)를 이용하여 750 nm에서 비색정량하였다.

뇨의 creatinine함량은 Folin 방법²³⁾을 이용하여 spectrophotometer로 520nm에서 비색정량하였고, 혈청

의 creatinine농도는 Folin and Wu의 방법²⁴⁾을 이용하여 spectrophotometer로 520nm에서 비색정량하였다. Creatinine clearance(glomerular filtration rate, GFR, ml/min)는 뇨와 혈청의 creatinine 농도로부터 구하였다.

6. 통계 처리

본 연구의 모든 실험 결과는 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였고, $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan의 다중비교(multiple comparison test)에 의해 유의성을 검정하였다.

또한 각 실험인자(A : 식이 중금속 공급, B : 식이 Cysteine수준)의 영향과 이들의 상호작용(AB : 식이 중금속×Cysteine)에 의한 영향은 $\alpha=0.05$ 수준에서 이원배치 분산분석(two-way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다.

결 과

1. 식이 섭취량, 체중 변화, 식이 효율

식이 섭취량은 식이내 중금속 공급의 영향을 받아 Cd공급군과 Pb 공급군이 대조군보다 낮은 경향을 보였고, 특히 Cd공급군이 더 낮았으며, 식이 Cys수준에 따른 영향은 볼 수 없었다. 체중증가량은 식이내 중금속과 Cys의 영향을 받아, Cd, Pb공급군에서 대조군에 비하여 성장저하가 있었으며, 식이 Cys수준이 증가할수록 성장저하가 둔화되는 경향을 보였다. 중금속으로 인한 체중감소는 Cd공급군에서 더 뚜렷하였고, 식이 Cys수준증가로 체중감소의 완화현상도 더 현저하였다. 식이효율(F.E.R)은 식이내 중금속과 Cys의 영향을 받아 Cd,

Table 3. Food intake, body weight gain, and food efficiency

| Groups | Food intake(g/day) | Body weight gain(g/30days) | F.E.R. |
|----------------------------------|--|------------------------------|----------------------------|
| NCys6 | ¹⁾ 14.53 ± 2.22 ^{bc2)} | 107.16 ± 22.85 ^{ab} | 0.25 ± 0.05 ^{abc} |
| NCys45 | 15.18 ± 0.95 ^{ab} | 150.65 ± 21.84 ^{ab} | 0.33 ± 0.04 ^a |
| NCys90 | 17.52 ± 1.74 ^a | 161.23 ± 58.37 ^a | 0.31 ± 0.10 ^{ab} |
| CdCys6 | 12.00 ± 2.18 ^c | 13.20 ± 22.70 ^c | 0.04 ± 0.07 ^d |
| CdCys45 | 11.96 ± 0.94 ^c | 88.55 ± 34.42 ^{abc} | 0.24 ± 0.09 ^{abc} |
| CdCys90 | 13.44 ± 2.14 ^{bc} | 107.51 ± 64.24 ^{ab} | 0.25 ± 0.11 ^{abc} |
| PbCys6 | 14.63 ± 2.64 ^{bc} | 75.61 ± 40.14 ^{bc} | 0.17 ± 0.08 ^c |
| PbCys45 | 13.89 ± 1.95 ^{bc} | 95.41 ± 36.16 ^{abc} | 0.24 ± 0.09 ^{abc} |
| PbCys90 | 13.20 ± 1.33 ^{bc} | 68.95 ± 42.85 ^{bc} | 0.18 ± 0.12 ^{bc} |
| Significant factor ³⁾ | A | A, B | A, B |

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated by F-test based on 2-way ANOVA

A : Effect of Cd and Pb(heavy metals) administration was significant at $\alpha=0.05$

B : Effect of cysteine level was significant at $\alpha=0.05$

AB : Effect of heavy metal × Cysteine was significant at $\alpha=0.05$

Pb공급군이 대조군에 비해 낮은 경향을 보였고, 모든 군에서 Cys를 보충하지 않은 군이 Cys를 보충한 군에 비해 낮게 나타났다. 체중증가량과 같이 중금속으로 인한 식이효율저하는 Cd군에서 가장 현저하였다.

2. 장기무게

간의 무게는 식이내 중금속과 Cys의 영향을 받아 대조군에 비하여 Cd과 Pb공급군에서 감소하였으며, Cd공급군이 Pb공급군에 비하여 다소 낮았다. 그리고 간의 무게가 Cys 보충군들에서 높게 나타났으나 Cys 45군과 Cys 90군사이에는 차이가 없었다. 신장의 무게는 식이내 Cys의 영향을 받아, Cys보충군이 비보충군에 비해서 높게 나타났으며, Cys보충 수준에 따른 차이는 볼 수 없었다. 또한 Cd공급군이 Pb공급군에 비해 낮은 경향을 보였다. 소장의 무게는 중금속과 Cys간의 상호작용의 영향을 받아, 대조군과는 달리 Cd공급군과 Pb공급군 중에서 Cys보충수준이 낮은 군(Cys45)이 가장 높게 나타났다. Cd공급군에 비해 Pb공급군의 소장무게가 낮

은 경향을 보였다. 고환의 무게는 식이내 중금속의 영향을 받아 대조군에서 높은 경향을 보였으나, 식이내 Cys수준에 따른 뚜렷한 경향은 나타나지 않았다. 대퇴골의 건조무게는 식이 중금속과 Cys의 영향을 받아서 중금속 공급군들이 대조군에 비해 다소 낮았고, Cys 보충군들이 Cys비보충군에 비하여 높았다.

3. 혈액, 간, 신장, 소장, 고환, 대퇴골의 cadmium 농도

혈액의 Cd농도는 Cd공급 유무에 영향을 받아 Cd공급군이 대조군에 비해 높았고, Cys 보충군들 중 Cys 45군이 Cys6과 Cys90군에 비하여 낮았다. 간과 신장의 Cd 농도는 Cd공급으로 유의적으로 증가하였으나, Cys수준에 따른 차이는 보이지 않았다. 소장의 경우 Cd 공급유무, Cys수준, 그리고 Cd공급유무와 Cys수준 간의 상호작용에 의한 영향을 받아 Cd 공급군에서 Cd 농도가 높았으며, Cd공급군들 내에서 Cys수준에 의한 영향을 받아 Cys를 보충한 군이 비보충군에 비해 낮아

Table 4. Organ weights

| Groups | Liver(g) | Kidney(g) | Intestine(g) | Testis(g) | Femur(g) |
|----------------------------------|--|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| NCys6 | ¹⁾ 7.36±0.40 ^(bc2) | 1.68±0.08 ^c | 4.23±1.26 ^b | 2.94±0.15 ^{ab} | 0.37±0.04 ^{abc} |
| NCys45 | 9.11±1.01 ^{ab} | 2.07±0.15 ^{abc} | 3.96±0.73 ^b | 3.10±0.25 ^a | 0.43±0.23 ^a |
| NCys90 | 9.54±1.51 ^a | 2.21±0.37 ^{ab} | 5.04±0.93 ^{ab} | 2.97±0.34 ^a | 0.45±0.11 ^a |
| CdCys6 | 5.33±0.73 ^d | 1.24±0.16 ^d | 4.53±1.19 ^b | 2.37±0.61 ^b | 0.30±0.02 ^c |
| CdCys45 | 7.68±1.59 ^{abc} | 1.67±0.25 ^c | 6.31±1.90 ^a | 2.91±0.27 ^{ab} | 0.33±0.04 ^{bc} |
| CdCys90 | 7.91±2.25 ^{abc} | 1.81±0.45 ^{bc} | 4.27±0.78 ^b | 2.94±0.30 ^{ab} | 0.39±0.08 ^{ab} |
| PbCys6 | 6.85±1.49 ^{cd} | 2.04±0.27 ^{abc} | 3.74±0.34 ^b | 2.77±0.24 ^{ab} | 0.35±0.06 ^{bc} |
| PbCys45 | 8.04±1.92 ^{abc} | 2.33±0.33 ^a | 4.31±0.51 ^b | 3.00±0.28 ^a | 0.40±0.05 ^{ab} |
| PbCys90 | 7.57±1.22 ^{abc} | 2.21±0.28 ^{ab} | 3.91±0.89 ^b | 2.51±0.79 ^{ab} | 0.39±0.06 ^a |
| Significant factor ³⁾ | A, B | B | A, AB | A | A, B |

1) Mean±S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated by F-test based on 2-way ANOVA(See Table 3)

Table 5. Cd concentration of blood, liver, kidney, small intestine, testis and femur

| Groups | Blood (µg/100ml) | Liver (µg/g wt) | Kidney (µg/g wt) | Small intestine (µg/g wt) | Testis (µg/g wt) | Femur (µg/g wt) |
|----------------------------------|---|-------------------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-------------------------|
| NCys6 | ¹⁾ 3.04±0.45 ^(c2) | 0.32±0.12 ^b | 2.15±0.00 ^b | 0.85±0.00 ^d | 0.05±0.00 ^b | 0.42±0.05 ^c |
| NCys45 | 2.84±0.00 ^c | 0.41±0.22 ^b | 2.60±0.17 ^b | 0.89±0.10 ^d | 0.05±0.00 ^b | 0.98±0.24 ^c |
| NCys90 | 2.84±0.00 ^c | 0.48±0.14 ^b | 2.34±0.18 ^b | 0.85±0.00 ^d | 0.05±0.01 ^b | 0.44±0.11 ^c |
| CdCys6 | 25.17±6.56 ^a | 36.51±7.67 ^a | 21.07±4.47 ^a | 4.14±0.91 ^a | 0.52±0.17 ^a | 2.64±0.64 ^b |
| CdCys45 | 19.16±0.88 ^b | 35.04±4.54 ^a | 25.03±5.39 ^a | 2.52±0.97 ^c | 0.56±0.14 ^a | 5.37±0.50 ^a |
| CdCys90 | 24.22±1.85 ^a | 32.51±7.67 ^a | 26.81±3.66 ^a | 3.54±0.58 ^b | 0.65±0.28 ^a | 4.16±1.70 ^{ab} |
| Significant factor ³⁾ | A, B | A | A | A, B, AB | A | A, B, AB |

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different α=0.05 by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated by F-test based on 2-way ANOVA

A : Cd effect was significant at α=0.05

B : Cysteine effect was significant at α=0.05

AB : Effect of Cd×cysteine was significant at α=0.05

Table 6. Cd excretions in urine and feces, and Cd retention ratio

| Groups | Urine($\mu\text{g}/\text{day}$) | Feces($\mu\text{g}/\text{day}$) | Cd retention ratio(%) |
|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| NCys6 | $^{11}0.79 \pm 0.40^{b2)}$ | 3.07 ± 1.38^c | - |
| NCys45 | 1.08 ± 0.46^b | 2.28 ± 0.67^c | - |
| NCys90 | 1.40 ± 0.62^b | 2.14 ± 0.77^c | - |
| CdCys6 | 10.25 ± 3.20^a | 504.20 ± 179.23^b | 74.28 ± 8.94^a |
| CdCys45 | 12.86 ± 3.57^a | 959.44 ± 129.01^a | 51.39 ± 6.49^b |
| CdCys90 | 13.09 ± 4.00^a | 990.61 ± 172.87^a | 49.82 ± 8.55^b |
| Significant factor ³⁾ | A | A, B, AB | B |

1) Mean \pm S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated by F-test based on 2-way ANOVA(See Table 5)

Table 7. Pb concentrations of blood, liver, kidney, small intestine, testis, and femur

| Groups | Blood ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) | Liver ($\mu\text{g}/\text{g wt}$) | Kidney ($\mu\text{g}/\text{g wt}$) | Small intestine ($\mu\text{g}/\text{g wt}$) | Testis ($\mu\text{g}/\text{g wt}$) | Femur ($\mu\text{g}/\text{g wt}$) |
|----------------------------------|---|--|---|--|---|--|
| NCys6 | $^{11}6.39 \pm 3.56^{c2)}$ | 2.92 ± 0.93^b | 0.19 ± 0.00^b | 2.18 ± 0.00^b | 0.06 ± 0.00^c | 0.35 ± 0.03^b |
| NCys45 | 7.65 ± 3.78^c | 2.50 ± 0.00^b | 1.41 ± 1.72^b | 2.18 ± 0.00^b | 0.06 ± 0.00^c | 0.31 ± 0.01^b |
| NCys90 | 7.65 ± 3.78^c | 2.50 ± 0.00^b | 1.41 ± 1.72^b | 3.23 ± 0.47^b | 0.06 ± 0.01^c | 0.31 ± 0.09^b |
| PbCys6 | 32.82 ± 4.17^a | 4.17 ± 1.56^b | 21.35 ± 5.13^a | 7.60 ± 2.07^a | 1.34 ± 0.57^b | 308.89 ± 58.38^a |
| PbCys45 | 26.53 ± 2.18^b | 8.54 ± 3.18^a | 23.74 ± 2.92^a | 7.29 ± 1.30^a | 0.99 ± 0.71^{bc} | 292.97 ± 97.50^a |
| Significant factor ³⁾ | A, B, AB | A, B, AB | A | A | A, B, AB | B |

1) Mean \pm S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated by F-test based on 2-way ANOVA

A : Effect of Pb administration was significant at $\alpha=0.05$

B : Effect of cysteine was significant at $\alpha=0.05$

AB : Effect of Pb \times cysteine was significant at $\alpha=0.05$

Cys45군이 가장 낮았다. 고환의 Cd농도는 Cd공급군이 대조군에 비해 높았고, 식이 Cys수준에 의한 차이는 보이지 않았다. 대퇴골의 Cd농도도 Cd공급군에서 높았고 이들중 Cys보충군들이 Cys 비보충군에 비하여 높았다.

4. 뇨와 변 중 cadmium 배설량과 cadmium보유율

뇨로 배설된 Cd함량은 Cd 공급에 의한 영향을 받아 Cd공급군에서 높았으나, Cys수준에 의한 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다. 변으로 배설된 Cd함량은 Cd공급 유무에 의한 영향, Cys수준에 의한 영향, 두가지 식이인 자간의 상호작용에 의한 영향이 유의적이어서 Cd공급군이 높았으며, Cd공급군들에서 Cys보충군에서 Cd배설량이 증가하였다. Cd보유율은 식이 Cys수준의 영향으로 Cys보충군들이 비보충군에 비하여 유의적으로 낮았다.

5. 혈액, 간, 신장, 소장, 고환, 대퇴골의 Pb 농도

혈액 Pb농도는 Pb공급과 Cys수준에 의한 영향과, Pb공급과 Cys수준간의 상호작용의 영향으로 Pb공급군이 대조군에 비해 높았으며, PbCys45군의 경우 PbCys

6군과 PbCys90군에 비해서 Pb농도가 낮게 나타났다. 간의 Pb농도는 Pb공급으로 유의적으로 증가하였고, Pb공급군 중 Cys를 보충하지 않은 군에 비해 Cys를 보충한 군에서 높게 나타났다. 신장의 Pb농도는 Pb공급 유무에 영향을 받아서 Pb공급군이 대조군에 비해 높았고, 식이 Cys수준에 의한 영향은 크게 나타나지 않았으나 Pb공급군들중 PbCys90군에 가장 높은 결과를 보였 다. 소장의 Pb농도는 Pb공급으로 유의적으로 차이가 났 으나, Cys수준에 의한 유의적인 차이는 보이지 않았다. 고환의 Pb농도는 Pb공급으로 유의적으로 증가하였고, Pb공급군들 중 PbCys90군이 PbCys6군과 PbCys45군 에 비하여 가장 높은 결과를 보였다. 대퇴골의 Pb농도는 식이내 Pb공급의 영향을 받아, Pb공급군이 현저히 높게 나타났으며, Cys에 의한 차이는 보이지 않았다.

6. 뇨와 변 중 Pb 배설량과 Pb 보유율

뇨를 통한 Pb배설량은 식이내 Pb수준의 영향을 받아 Pb 공급군에서 높았고, 식이 Cys 수준에 의한 유의적인 영향은 나타나지 않았으나, Cys보충군들이 비보충군에 비하여 다소 높았다. 변으로 배설된 Pb함량은 식이내

Table 8. Pb excretions in urine and feces, and Pb retention ratio

| Groups | Urine($\mu\text{g}/\text{day}$) | Feces($\mu\text{g}/\text{day}$) | Pb retention ratio(%) |
|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| NCys6 | $^{1)}0.48 \pm 0.26^{b2)}$ | 5.71 ± 2.91^c | - |
| NCys45 | 0.95 ± 0.26^b | 7.82 ± 1.99^c | - |
| NCys90 | 1.54 ± 0.64^b | 7.12 ± 2.91^c | - |
| PbCys6 | 3.43 ± 1.66^{ab} | 351.58 ± 81.12^b | 90.01 ± 2.30^a |
| PbCys45 | 5.33 ± 0.85^a | 416.45 ± 124.67^a | 88.12 ± 3.45^a |
| PbCys90 | 6.30 ± 3.82^a | 525.88 ± 116.43^a | 85.00 ± 3.11^a |
| Significant factor ³⁾ | A | A, B, AB | |

1) Mean \pm S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated by F-test based on 2-way ANOVA(See Table 7)

Table 9. Metallothionein concentrations of liver, kidney, and small intestine

| Groups | Liver MT($\mu\text{g}/\text{g wt}$) | Kidney MT($\mu\text{g}/\text{g wt}$) | Small intestine MT($\mu\text{g}/\text{g wt}$) |
|----------------------------------|---------------------------------------|--|---|
| NCys6 | $^{1)}29.15 \pm 10.12^{c2)}$ | 11.89 ± 7.10^b | 2.03 ± 0.38^c |
| NCys45 | 35.04 ± 7.59^c | 26.19 ± 5.47^b | 3.09 ± 0.36^{de} |
| NCys90 | 41.58 ± 7.18^c | 31.50 ± 10.74^b | 3.78 ± 0.57^{de} |
| CdCys6 | 115.75 ± 11.95^b | 77.56 ± 3.95^a | 6.99 ± 0.79^{bc} |
| CdCys45 | 325.72 ± 65.70^a | 102.46 ± 7.69^a | 13.34 ± 3.27^a |
| CdCys90 | 278.46 ± 53.31^a | 93.68 ± 6.01^a | 10.25 ± 1.56^{ab} |
| PbCys6 | 34.68 ± 6.42^c | 26.39 ± 9.31^b | 4.21 ± 0.60^{de} |
| PbCys45 | 57.68 ± 3.65^{bc} | 39.85 ± 6.67^b | 6.19 ± 0.49^{cd} |
| PbCys90 | 48.67 ± 7.40^c | 32.81 ± 5.28^b | 5.15 ± 0.48^{cde} |
| Significant factor ³⁾ | A, B | A | A, B |

1) Mean \pm S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated by F-test based on 2-way ANOVA(See Table 3)

Pb, Cys의 영향과, 두가지 식이인자간의 상호작용에 의해 Pb공급군이 유의적으로 높았으며, Pb공급군 중 Cys보충군들이 비보충군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Pb보유율은 실험기간에는 유의적인 차이는 나지 않았으나 식이 Cys수준이 높을수록 낮아지는 경향을 보였다.

7. 간, 신장, 소장의 metallothionein농도

간의 MT농도는 식이내 중금속과 Cys수준의 영향으로 중금속 공급군이 대조군에 비해 높았고, Cd공급군의 경우 대조군과 Pb공급군에 비해 현저히 높았으며, 식이 Cys수준에 따른 차이는 Cd공급군에서 뚜렷하여 Cys보충군이 Cys비보충군보다 높은 수치를 보였다. Pb공급군에서는 Pb공급에 따른 뚜렷한 차이는 보이지 않았지만, Cys보충군들이 비보충군에 비해 MT농도가 높아지는 경향을 보였다. 신장의 MT농도도 Cd를 공급한 군에서 유의적으로 높았고, Pb공급시는 대조군에 비해서 크게 차이를 보이지 않았다. 식이 Cys보충에 따른 차이는 유의적은 아니나, Cys보충으로 MT농도가 증가하는 경향을 보였다. 소장의 경우, 중금속 공급유무와 Cys에 의한 영향이 유의적이어서 Cd공급군과 Pb공급군이 대조

군에 비해서 MT 농도가 높았으며, Cd공급군이 더욱 높았다. 식이 Cys수준에 따른 영향을 보면 Cys보충군들이 Cys비보충군에 비하여 높게 나타났다.

8. 뇨 중 단백질 배설량, 사구체 여과율과 hematocrit value

뇨 중 단백질 배설량의 경우, 식이내 중금속과 Cys의 영향을 받아, Cd공급군의 경우 대조군에 비해 유의적은 아니나, 배설량이 적게 나타났으며, Pb공급으로 유의적은 아니나, 배설량이 증가하였다. 그리고, 식이 Cys수준의 영향을 보면, 대조군과 Cd공급군에서 배설량이 Cys보충으로 증가하였다. 사구체 여과율은 식이내 중금속과 Cys의 영향을 받아 Cd공급군과 Pb공급군 간에는 유의적인 차이가 없으나 대조군에 비해서 이들의 사구체 여과율이 떨어짐을 볼 수 있었고, 식이 Cys수준에 따른 영향을 보면 대조군과 Cd공급군에서 Cys를 보충하였을 때 증가하는 경향을 보였다. Hematocrit value는 Cd공급과 Pb공급에 영향을 받아 Cd공급군과 Pb공급군이 대조군에 비해 낮았으며, Cd공급군들에서 더 낮았다. Cd공급군들에서는 Cys보충 효과가 없었으나, Pb공급군들에서는 Cys보충으로 증가하는 경향을 보였다.

Table 10. Urinary protein excretion, creatinine clearance and hematocrit value

| Groups | Urinary protein(mg/day) | Creatinine clearance(ml/min) | Hematocrit value |
|----------------------------------|---|------------------------------|--------------------------|
| NCys6 | ¹⁾ 1.45±0.69 ^{bc2)} | 1.04±0.68 ^b | 41.18±2.25 ^a |
| NCys45 | 3.24±1.15 ^a | 2.20±1.13 ^a | 39.57±3.28 ^a |
| NCys90 | 2.90±1.34 ^{ab} | 1.73±0.43 ^{ab} | 38.64±2.07 ^{ab} |
| CdCys6 | 0.89±0.47 ^c | 0.59±0.25 ^b | 33.55±2.46 ^{ab} |
| CdCys45 | 1.72±0.93 ^{abc} | 1.30±0.82 ^b | 26.22±7.06 ^b |
| CdCys90 | 3.15±1.69 ^a | 1.31±0.53 ^b | 32.41±4.51 ^{ab} |
| PbCys6 | 1.65±1.65 ^{abc} | 0.84±0.41 ^b | 33.07±2.73 ^{ab} |
| PbCys45 | 1.20±0.42 ^c | 0.72±0.30 ^b | 38.61±1.73 ^a |
| PbCys90 | 1.85±0.80 ^{abc} | 0.91±0.35 ^b | 36.18±7.83 ^a |
| Significant factor ³⁾ | A, B | A, B | A |

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column are significantly different $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated by F-test based on 2-way ANOVA(See Table 3)

고찰 및 결론

1. Cd과 Pb중독의 영향

Cadmium공급시 식이섭취량을 감소시키고, 체중증가의 감소와 식이효율의 감소를 가져온다는 여러보고²⁵⁾와 같이, 본 연구에서도 Cd공급시에는 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율이 대조군에 비해 감소되었고, 특히 체중증가량과 식이효율이 유의적으로 크게 감소하였다. 체중증가량이 크게 감소된 것은 식이섭취량에 기인한 것이 아니라, 식이효율이 낮았기 때문이었다.

동물 체내에서 Cd축적량의 50~80%가 간과 신장에 분포되기 때문에 Cd중독에 가장 많은 영향을 받는 기관이 간과 신장인데, 이들의 무게가 Cd공급에 의해 감소한다는 보고²⁶⁾가 있다. 본 연구에서도 간, 신장의 무게는 Cd공급으로 감소되었다. 고환은 급성 Cd중독시에 용혈, 괴사등의 증세를 보인다고 하며 또한 조직무게의 감소가 나타난다²⁷⁾고 하나, 본 연구 결과 고환의 무게는 Cd공급으로 감소하는 경향만 보였으므로, 고환은 간, 신장에 비해 Cd의 영향을 덜 받은 것으로 보인다.

Cadmium는 calcium(Ca)대사에 영향을 주어 bone mass를 변화시키고, Ca이 흡수, 배설 그리고 뼈로 축적되는 과정에서 서로 경쟁함으로써 Ca흡수율을 감소시킨다¹⁴⁾. Cd중독시 신장기능에 장애가 생겨 calcitriol (1,25(OH)₂D₃)의 합성이 감소하여 CaBP(calcium binding protein)양이 낮아져서 장내 Ca을 효과적으로 흡수할 수 없게 되고, Ca의 재흡수가 줄어들고 노와 변으로의 배설량이 증가한다고 한다²⁸⁾. 결국 negative Ca balance를 유발하고 이는 bone resorption을 더욱 증가시켜 osteoporosis나 osteomalacia를 유발한다²⁹⁾. 본 연구에서도 Cd공급으로 대퇴골의 건조무게는 대조군에 비해 낮은 경향을 보였는데, 이는 Cd공급으로 인한

식이섭취 및 식이효율의 감소 뿐만 아니라, bone resorption이 증가되고 뼈의 성장이 감소된 것으로 보인다.

각종 장기에 축적된 Cd의 함량을 보면, Cd의 공급으로 모두 Cd함량이 유의적으로 증가하였다. 그 중에서, 혈액, 간, 신장에서의 Cd함량이 높았다. 혈액내의 Cd농도가 높은 것은 간, 신장등의 조직으로 이행되고 있는 형태의 Cd이 많은 것으로 생각되고, 간은 Cd 노출 경로에 관계없이 인체내에서 Cd축적이 가장 높은 기관으로 Cd에 의해 가장 독성을 일으키기가 쉽다고 하는데³⁰⁾, 다른 조직에 비해서 Cd농도가 가장 높았다. 하지만 혈액으로 부터 간으로 흡수된 Cd가 MT와 결합되어져서 존재한다면, 간조직내에 Cd의 농도가 높아도, 이는 non-toxic하기 때문에 조직내의 Cd절대량보다는 조직내에 존재하는 Cd의 형태가 중요하다고 할 수 있다. 신장의 경우 Cd농도가 Cd공급시 대조군에 비해 높았으나, 간에 비해서는 높지 않았다. 노를 통한 Cd배설량은 변을 통한 Cd배설량보다는 많지는 않았지만, 신장조직의 Cd흡수의 억제효과를 나타낸 것으로 보인다.

Cadmium에 만성적으로 노출되면 신장의 tubule에 이상이 생겨 노로의 단백질 배설량이 늘고, 사구체가 손상이 되어 사구체 여과율이 감소하게 된다고 알려져 있다²⁹⁾. 본 연구에서는 Cd공급으로는 노 중 단백질 배설량은 늘지 않았지만, 사구체 여과율은 감소 경향을 보였다. 그러므로, Cd공급으로 인해 신장기능의 저하가 있음을 볼 수 있었다.

Cadmium에 의해 유발되는 빈혈은 Cd이 혈장 transferrin 및 간의 ferritin과 결합하여 Fe흡수와 체내 Fe이용을 방해함으로써 RBC크기가 감소되고 Hb농도가 감소되는 microcytic hypochromic anemia이다³²⁾³³⁾. 본 연구에서는 Cd중독 증세인 빈혈을 관찰하기 위해 hematocrit value를 측정된 결과 흰 쥐의 정상 범위인

44.4%~50.4%에 미치지 못하여 Cd로 인한 철분대사에 이상이 있었음을 볼 수 있었다.

Cadmium과 같은 원자수의 Pb 공급시에는 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율이 대조군과 유의적으로 차이는 나지 않았지만, 체중증가량과 식이효율은 대조군에 비해 낮은 경향을 보였다. 체중증가율의 감소 경향은 식이효율이 떨어졌기 때문으로 보인다.

Lead공급으로 인해 간, 신장등의 조직이 영향을 받는다는 보고³⁴⁾와는 달리, 본 연구에서는 간, 신장의 무게가 대조군과 유의적으로 차이가 없었으며, 신장의 무게는 오히려 더 높은 경향을 보였다. 이는 본 연구에서 사용한 Pb수준으로는 중독정도가 심하지 않았다고 생각할 수 있다. Pb공급에 의한 대퇴골의 건조무게는 유의적으로 감소되지는 않았지만, 대퇴골에서의 Pb농도는 다른 장기에 비해 현저히 높았다. 이는 체내 총 Pb함량의 90% 정도가 골격에 존재한다는 보고³⁵⁾와 일치하였다.

조직내의 Pb농도는 혈액과 신장에서 높았는데, 혈액의 Pb농도는 Cd농도와 마찬가지로 각종조직으로 이행 중인 형태가 많아서인 것 같고, 본 실험에서 간과 신장에 축적된 Pb함량을 비교시 Cd과는 달리 신장에 축적된 Pb양이 더 많았다. 이와 같이 중금속 종류에 따라 체조직내 분포가 다른 것을 볼 수 있었다.

신장기능의 변화를 살펴보기 위한 뇨단백질 배설량은 Pb공급으로 증가하는 경향을 보였으며, 사구체 여과율 또한 대조군과 유의적으로 차이는 나지 않지만, 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 그러므로, Pb농도가 가장 높았던 연조직인 신장의 기능 저하가 있었음을 알 수 있었다.

Lead는 적혈구 용혈을 증가시키고, glycine으로 부터 시작되는 7개의 heme합성단계 중 5단계에 관여하는 효소작용을 저해하기 때문에 Hb 및 적혈구 생성이 감소되어 빈혈을 야기시킨다. 특히 δ -aminolevulinic acid dehydrase와 ferrochelatase의 두 효소가 Pb중독에 예민하다. 본 연구에서 Pb공급시 hematocrit value가 정상범위에 미치지 못하였으므로, Pb공급으로 인한 효소 활성에 이상이 있었음을 알 수 있었다. 이상과 같이 같은 원자수를 공급하여 Cd와 Pb의 중독정도를 비교시에 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율, 간, 신장, 고환, 대퇴골의 무게가 Cd공급으로 더 감소하는 경향을 보였으며, 특히, 식이효율의 현저한 감소로 Cd공급군의 성장저하가 더 컸던 것으로 보인다. 사구체 여과율 또한, Cd공급군과 Pb공급군간에 유의적인 차이는 나지 않았지만, Cd공급으로 더 감소하는 경향을 보였다. 그러므로 Cd과 Pb중 Cd에 의한 중독 정도가 더 심함을 알 수 있었다.

2. Cysteine보충과 보충수준에 따른 영향

Cadmium을 공급받은 동물들에서 Cys보충군의 체중증가량, 식이효율이 Cys비보충군에 비해 높았고, Cys을 0.90%수준으로 보충하였을 경우의 체중증가및 식이효율은 NCys6군수준까지 회복됨을 볼 수 있었다. 이는 식이 Cys보충에 의해 Cd중독이 완화된 것으로 생각되므로, Cd중독에 의한 성장저하는 충분한 Cys보충으로 극복될 수 있는 것으로 나타났다.

간과 신장의 무게는 Cys을 0.45% 또는 0.90%수준으로 보충하였을 경우에 NCys6군 수준까지 증가하였으나, Cys보충군간에는 유의적인 차이가 없었다. 고환의 무게는 Cd공급으로 감소하는 경향을 보였으나, Cys보충으로 다시 회복되었고, Cd공급으로 인한 대퇴골의 무게와 길이의 감소는 Cys보충으로 완화되는 경향을 나타냈다. 대퇴골의 Cd농도는 다른 조직에서 감소한 것과는 달리 Cys보충으로 증가하였는데, 골조직에 축적된 Cd은 제거율이 낮은 것으로 보인다.

Cadmium은 쉽게 배설되지 않으며 생물학적 반감기가 길므로, non-toxic한 형태로 전환시켜 주는 해독기전이 반드시 필요하다. 이들 Cd는 2가지 형태로 분류되는데, 하나는 cell내 MT와 결합되어 있는 non-toxic한 형태이고, 다른 하나는 toxic한 free상태의 non-MT-bound형태이다. 체내에 존재하는 free상태의 reactive heavy metal이 조직의 예민한 부위에 결합되어 독성을 일으키는데 MT는 중금속과 결합하여 세포내 reactive한 중금속 양을 감소시킴으로써 중금속의 해독작용을 한다고 한다³¹⁾³⁶⁾. Cadmium은 소장에서 수동적으로 운반되어서 Cd에 의해 유도 합성된 MT에 의해 Cd-MT형태로 장세포내에 격리되어 세포 교체시 lumen으로 배설되고, Cd-MT형태의 일부는 혈중으로 유리된다³⁷⁾. 소장을 통해 흡수된 Cd는 Cd-MT형태나 Cd-albumin형태로 혈액에 방출되어 Cd-MT는 신장의 proximal tubular cell에 의해 uptake되고 Cd-albumin은 주로 간으로 흡수된다³⁷⁾. 간으로 흡수된 Cd는 MT와 결합하여 혈중으로 나와 신장으로 운반된다. 이때 혈중에 존재하는 Cd는 소장에서 흡수된 것과 간에서 부터 유래된 것으로 구성되어 있다³⁸⁾. 신장에서 흡수된 Cd-MT는 그 자체가 pinocytosis에 의해 세포내에 들어가는데 세포내 lysosome에서 분해되어 유리상태의 Cd를 만든다³⁹⁾. 이들은 소변으로 배설되거나 tubular cell에서 MT재합성이 시작되어 또 다시 유독하지 않은 Cd-MT를 형성한다. 그러나 MT의 분해과정에서 다량의 Cd가 방출되면 tubular cell내의 과량의 Cd는 Cd-MT형태로 격리되지 못하고 신장의 손상을 초래한다. 그러므로 간과 신장조직의 basal MT level은 중금속의

독성을 막는 중요한 역할을 하는 것으로 보이고, 간, 신장, 소장과 같이 MT가 많이 합성되는 조직의 Cd농도는 MT농도와 함께 고려되어야 한다.

Cysteine은 MT구성에 있어서 아주 중요한 amino acid로 MT의 총 61개의 amino acids중 27개가 Cys이다. 그러나, 본 연구에서는 Cys보충수준이 높아질수록 dose response로 MT합성량이 증가하는 것이 아니라, Cys45군에 비해 오히려 Cys90군의 경우 MT합성량이 유의적이지 않거나 다소 낮은 경향을 보였다. 간과 신장에서 Cys수준에 비례하여 MT합성이 증가하지는 않았지만, Cys보충으로 인하여 basal MT level의 증가가 Cd에 노출되었을 때 신속히 Cd를 격리시켜 줌으로써 Cd toxicity를 줄일 수 있을 것으로 생각한다. 소장의 MT농도는 소장의 Cd농도가 간과 신장에 비해 낮게 나타난 것과 마찬가지로 낮게 나타났다. Cys보충군의 경우 변으로의 Cd배설량이 많아 Cys비보충군에 비해 Cd의 낮은 흡수율을 보였다. 이는 Cys보충에 의해 소장의 MT합성이 다소 촉진되었고, 이로 인해 Cd가 MT와 결합한 상태로 있다가 mucosal cell의 박리시 변으로 배설되었기 때문으로 생각한다. 이처럼 Cys보충시 변으로의 배설이 증가하여 Cd보유율 또한 감소하였으나 Cys수준에 따른 유의적인 차이는 볼 수 없었다.

사구체 여과율은 식이 Cys보충수준에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았지만, Cys보충으로 증가하는 경향을 보였다. 신장에서 Cys보충시 Cd농도는 변화가 없었으나, MT농도의 증가로 MT와 결합된 Cd가 신장에 존재하여 신장의 기능저하를 완화시켰다고 본다.

Lead공급군에서는 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율이 Cys보충에 의해 유의적으로 증가하지 않았으며, 간, 신장, 소장의 무게는 유의적이지 않거나 Cys보충으로 약간 증가하는 경향을 보였다. 대퇴골의 무게가 Pb공급으로 감소되었다가 Cys보충으로 증가하는 것으로 보아서, 대퇴골의 Pb농도는 높지만, 장기무게를 변화시킬 만큼의 독성정도는 보이지 않은 것 같다. Lead공급군에서 Cys보충시 간, 신장, 소장의 MT농도는 유의적으로 증가하지 않았으나, 변과 뇨를 통한 Pb배설량은 증가하였다. 그러나 Cys보충으로 인한 Pb보유율의 저하는 Cd보유율에 비하여 현저하지 못하였다.

Cysteine은 Pb공급군에서 보다 Cd공급군에서 더 효과적으로 제독효과를 보여 주었다. 특히 Cd공급군의 MT합성과 변으로의 배설량이 Cys보충시 Pb공급군에서 보다 더 증가하여 Cd의 독성을 완화시키는데 더 효과적이었다. 그러나 Cys보충수준에 따른 유의적인 차이는 볼 수 없어 Cys45군(0.45%)보다 더 높은 수준으로 Cys를 보충하였을 때 dose-response가 나타나지 않았다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 같은 원자수의 Cd와 Pb공급시 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율, 장기무게가 Cd공급에 의해 더 감소되었다. 그러므로 Cd가 Pb에 비해 흰쥐의 성장에 있어서 더 심한 독성을 나타냄을 알 수 있었고, 이러한 중금속의 독성은 Cys보충으로 완화되었는데, 특히, Cys보충효과는 Pb공급군보다 Cd공급군에서 더 효과적이었다. 즉, Cys보충으로 Cd공급군의 식이효율, 간·신장·대퇴골의 무게가 증가하였고, MT합성과 변을 통한 Cd배설량을 증가시켰다. Cys보충수준에 따른 중금속 제독효과는 보충수준에 비례하여 차이를 보이지는 않았지만, Cys보충으로 인하여 세포내 MT합성을 증가시키고, 변을 통한 중금속 배설을 증가시킴으로써 독성을 완화시켰음을 볼 수 있었다.

Literature Cited

- 1) Foulkes EC, Bernard A, Lauwerys R. Cadmium. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, p135, 1986
- 2) Webb M. Binding of cadmium ions by rat liver and kidney. *Biochem Pharmacol* 21 : 2751-2765, 1972
- 3) 장성길. 한국인의 장기조직 중의 미량 중금속 원소분포. 중앙대학교 대학원 박사학위 논문, 1983
- 4) Kjellstrom T, Nordberg GF. A kinetic model of cadmium metabolism in the human being. *Environ Res* 16 : 248-269, 1978
- 5) Friberg L, Piscator M, Nordberg G, Kjellstrom T. Cadmium in the Environment' 2nd edition CRC Press, Cleveland, OH, 1974
- 6) Rabinowitz MB, Wetherill GW. Lead metabolism in the normal human : stable isotope studies. *Science* 182 : 725-727, 1973
- 7) 김미경·이혜영. 종류가 다른 고섬유질 식이가 흰쥐의 납 흡수 및 체내 대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 23(7) : 492-503, 1990
- 8) 김지희·김미경. 식이 단백질 및 섬유질이 납중독 흰쥐의 단백질과 납 대사에 미치는 영향. *대한가정학회지* 29(3) : 47-59, 1991
- 9) Kagi JHR, Schaffer A. Biochemistry of metallothionein. *Biochemistry* 27 : 8509-8515, 1988
- 10) Nordberg M, Nordberg GF. Metallothionein II. *Experientia Supplementum* 52 : 669-675, 1987
- 11) Hidalgo J, Garvey JS, Armario A. On the metallothionein, glutathione and cysteine relationship in rat. *J Pharmacol & Expert Therap* 255(2) : 554-564, 1990
- 12) Blalock TL, Dunn MA, Cousins RJ. Sensitivity of native metallothionein in promoters to dietary copper and zinc. *Fed Proc* 46 : 884, 1987
- 13) 박주연. 식이 단백질과 Cysteine수준이 흰쥐의 Cadmium

- 중독에 미치는 영향. 이화여자대학교 대학원 석사학위 논문, 1994
- 14) Omori M, Muto Y. Effects of dietary protein, calcium, phosphorus and fiber on renal accumulation of exogenous cadmium in young rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 23 : 361-373, 1977
 - 15) Zinterhofer LTM, Jotolow PT, Fappiano A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78 : 664-674, 1971
 - 16) Yeager DW, Cholak J, Henderson EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometry. *Environ Sci Technol* 5 : 1020-1022, 1971
 - 17) Scheuhammer AM. The dose-dependent desposition of cadmium into organs of Japanese quail following oral administration. *Toxicol Appl Pharmacol* 95 : 153-161, 1988
 - 18) Scheuhammer AM, Cherian MG. Quantification of metallothioneins by a silver-saturation method. *Toxicol Appl Pharmacol* 82 : 417-425, 1986
 - 19) Onosaka S, Chrian MG. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods. *Toxicol Appl Pharmacol* 63 : 270-274, 1982
 - 20) Eaton DL, Toal BF. Evaluation of the Cd/Hb affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissue. *Toxicol Appl Pharmacol* 66 : 134-142, 1982
 - 21) Eaton DL, Chrian MG. Determination of metallothionein in tissues by cadmium-hemoglobin affinity assay. *Methods in enzymology* 205 : 83-88, 1991
 - 22) Lowry OH, Resebrough NJ, Farr AC, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
 - 23) Oser BL. Haw's physiological chemistry. 4th edition. New York, McGraw-Hill Book, p1040-1232, 1965
 - 24) 이귀녕 · 김진규. 임상의학, 서울 의학출판사, p72, 1988
 - 25) 권오란. 식이 단백질과 calcium 수준이 흰쥐의 cadmium 중독 및 해독에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25(5) : 360-378, 1992
 - 26) Faeder EJ, Chaney SQ, King LC, Hanners TA, Bruce R, Fowler BA. Biochemical and ultrastructural change in livers of cadmium-treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 39 : 473-487, 1977
 - 27) Suzuki KT, Yaguchi K, Ohnuki R, Kishikawa M, Yamada YK. Extent of cadmium accumulation and its effect on essential metal in liver, kidney and body fluids. *J Toxicol Environ Health* 11 : 713-726, 1983
 - 28) Kawamura J, Yoshida O, Nishino K, Itokawa Y. Disturbances in kidney functions and calcium and phosphate metabolism in cadmium-poisoned rats. *Nephron* 20 : 101-110, 1978
 - 29) Hamilton DL, Smith MW. Inhibition of intestinal calcium uptake by cadmium and the effect of a low calcium diet on cadmium retention. *Environ Res* 15 : 175-184, 1978
 - 30) Frazier JM, Puglese J. Dose dependence of cadmium kinetics in the rat liver following intravenous injection. *Toxicol Appl Pharmacol* 43 : 461-474, 1978
 - 31) Fowler BA, Nordberg GF. The renal toxicity of cadmium metallothionein: Morphometric and X-ray microanalytical studies. *Toxicol Appl Pharmacol* 46 : 609-623, 1978
 - 32) Kim YH, Linkswiller HM. Effect of level of protein intake on calcium metabolism and on parathyroid and renal function in the adult human male. *J Nutr* 109 : 1399-1404, 1979
 - 33) Schutte SA, Zemel M, Linkswiller HM. Studies on the mechanism of protine-induced hypercalciuria in older men and women. *J Nutr* 110 : 305-315, 1980
 - 34) Mahaffey KR. Nutritional factors in lead poisoning. *Nutr Rev* 39(10) : 353-362, 1981
 - 35) Monier-Williams GW. Trace Elements in Food. Chapman & Hall, London, 1949
 - 36) Din WS, Frazier JM. Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocyte. *Biochem J* 230 : 394-402, 1985
 - 37) Ohta H, Chreian MG. Gastrointestinal absorption of cadmium and metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol* 107 : 63-73, 1991
 - 38) Nordberg GF, Piscator M, Nordberg M. On the distribution of cadmium in blood. *Acta Pharmacol Toxicol* 30 : 289-295, 1971
 - 39) Min KS, Nakatsubo T, Fujita Y, Onosaka S, Tanaka K. Degradation of cadmium metallothionein *in vitro* by lysosomal proteases. *Toxicol Appl Pharmacol* 113 : 299-305, 1992