

카드뮴 투여에 의한 흰쥐 조직 및 소변내 중금속 농도의 변화

천기정* · 김봉희*

*한국원자력 연구소 방사선응용연구그룹, 충남대학교 약학대학
(Received June 4, 1996)

Changes of Heavy Metal Concentration in Rat's Tissues and Urine after Cd-administration

Ki-Jung Chun* and Bong-Hee Kim*

*Korea Atomic Energy Research Institute, Advanced Research Group, Taejon 305-600, Korea
College of Pharmacy, Chung Nam National University, Taejon 305-764, Korea

Abstract - This study was conducted to investigate on the changes of copper and zinc concentration in rat's tissues and urine after cadmium administration with atomic absorption spectrophotometric method. It is found that cadmium appeared to cause a change in the behavior of copper and zinc *in vivo* system even during 1 month after cadmium treatment.

Keywords □ Cadmium, Copper, Zinc, Atomic Absorption Spectrophotometric method.

오늘날 산업문명의 발달로 산업장에서의 각종 화학 물질과 다양한 폐기물로 인한 환경오염이 날로 심각해지고 있으며 이로 인해 인류 건강은 매일 위협 받고 있다. 이러한 환경오염중에서 중금속에 의한 오염은 더욱 심각한 건강 위협을 초래하고 있다.

카드뮴은 아연과 아연 합금 과정에서 물리적으로 또는 화학적으로 생성되며 1900년대에는 소량만이 생산되었으나 1975년도의 연간 세계의 생산량이 약 15,000톤에 이르며 현재의 생산량은 상당하다. 산업에서의 이용도가 높아 염료, 니켈-카드뮴 건전지 그밖의 다른 산업용으로 사용되어 음식중의 카드뮴량도 증가하고 있으며 흡연은 인체에 카드뮴의 축적에 크게 기여하고 있다.¹⁾ 카드뮴은 인산계 비료나 오물 슬러지와 공기 오염원과 함께 토양으로 들어가며 다른 중금속과 비교하면 토양에서 큰 이동성을 갖기 때문에 여러가지 형태로 식물에 흡수하게 되며²⁾ 인체의 흡수는 주로 음식과 음료수에 의한다.³⁾ 환경에서의 카드뮴 흡수는 약 5%로 상대적으로 낮으며 동

물 및 인체의 실험에서 살펴보면 단지 음식에 의한 카드뮴은 적은 양이 장내 점막에 의해 흡수되어 이중 1~6% 보다 적은 양이 점액으로 들어가서 신체를 통과하게 된다.⁴⁾ 이와같이 인간의 카드뮴 흡수는 산업장 근로자를 제외하고 일반인들은 주로 대기의 흡입, 흡연, 물과 음식의 섭취를 통해서 흡수된다. 자연계에서의 카드뮴은 보통 아연과 공존하며 인간의 필수 원소가 아니나 체내에 축적되는 경향이 있으며 더욱이 사람에게 있어 약 20년(10~30년)의 생물학적 반감기를 갖고 있는 가장 독성이 높은 환경 오염원중의 하나로 알려져있다.⁵⁻⁹⁾ 한편 구리와 아연은 인체의 미량필수금속으로 많은 효소의 성분중에 포함되어 생체내 여러가지 대사에 관여하고 있으며 그 절대량보다 구리와 아연의 비가 중요하다. 구리, 아연 및 카드뮴은 생체내에서 Metallothionein 형태의 단백질에 의해 운반 저장되며 외부에서 중금속 투여시 생체내 Thionein이 유도 생합성되어 중금속과 결합하므로써 중금속에 의한 독성을 감소시킨다.¹⁰⁾

따라서 카드뮴 투여에 의해 생체내에서 Cd-thionein 생성시 기존 생체내에 존재하는 미량의 필수 금속대사에 영향이 있을 것이라고 생각되는 바^{11, 12)} 본

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-821-5935 (팩스) 042-821-5903

실험에서는 카드뮴을 흰쥐에 투여한 후 30일동안의 뇨 중 구리 아연 및 카드뮴의 배설 양상을 관찰하였고, 카드뮴, 아연, 구리, 아연 선 투여 후 카드뮴투여 및 구리 선 투여 후 카드뮴을 투여하여 각 조직에서의 구리 및 아연 양을 측정하여 카드뮴에 의한 생체내 중금속 농도의 변화를 검토하였다.

실험방법

실험동물 - 체중 200 g 전후 수컷 Sprague Dawley 흰쥐를 계통엔지니어링에서 구입하여 실온에서 사육하면서 한그룹당 실험동물은 5마리로 하여 실험하였다.

중금속투여 - 카드뮴, 아연, 구리, 아연 선투여후 카드뮴 투여 및 구리 선투여후 카드뮴 투여군으로 하였다. 카드뮴은 $CdCl_2 \cdot 2H_2O$ 를 사용하여 Cd 1 mg/kg body wt.로 1일 1회, 연속 3일간 복강내 주사한 다음 마지막 주사후 24시간부터 30일간동안 일정간격으로 소변을 채취하여 한그룹의 시료를 모두 모아 실험에 사용하였다. 아연투여는 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 를 사용하여 Zn 10 mg/kg body wt.로 하였으며 구리투여는 $CuSO_4 \cdot 7H_2O$ 를 사용하여 Cu 2.5 mg/kg body wt.로 상기 카드뮴 투여에 의한 방법과 동일하게 수행하였으며 실험에 사용한 모든 중금속은 생리식염수에 녹여 사용하였다.

조직 적출 및 시료제조 - 상기 중금속 투여시 마지막 투여후 24시간후 간 및 콩팥을 적출하고 10 mM phosphate buffer(pH 7.0)으로 4°C에서 glass homogenizer로 균질화 시킨 후 2시간동안 25,000×g에서 원심분리한 후 그 상층액을 -20°C에서 냉동한 후 다시 17,000×g로 원심분리하여 그 상층액을 시료로 사용하였다.

단백질 정량 - 조직 시료의 단백질 농도의 정량은 Bradford¹³⁾방법에 따라 측정하였다. Coomassie brilliant blue G 100 mg을 95% ethanol 50 ml와 85%(w/v) H_3PO_4 100 ml를 섞어 완전히 녹인 다음 증류수로 1,000 ml로 희석시켜 사용하였으며 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준단백질 곡선은 bovine serum albumin을 사용하였다.

중금속측정 - 각 조직의 단백질당 구리 및 아연 농도와 소변 중 카드뮴, 아연, 구리 양 측정은 화염방식의 원자흡광분석기(Atomic Absorption Spectrophotometer, Smith-Hieftje 4000)를 사용하여 분석하였다.

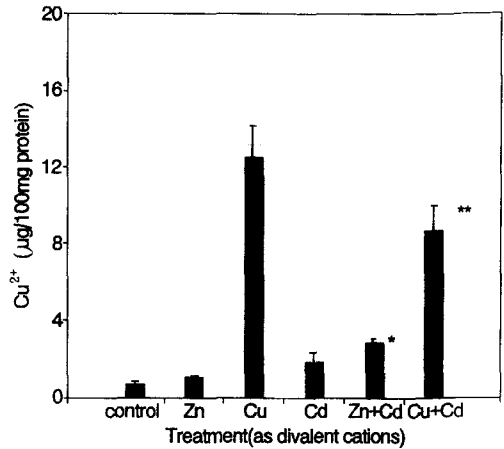


Fig. 1 - Amount of Cu^{2+} in rat liver after treatment by various metals. Data represent mean \pm sem, n=5, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

Heavy metal was administrated intraperitoneally once a day for three consecutive days and rats were sacrificed 24 hrs. later. Cu^{2+} of rat liver homogenized with PBS(pH 7.0) was measured by atomic absorption spectrophotometer.

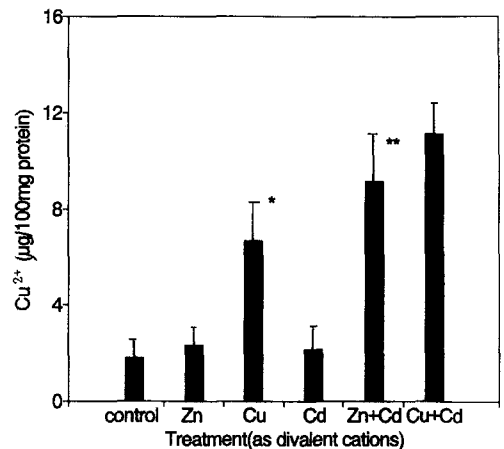


Fig. 2 - Amount of Cu^{2+} in rat kidney after treatment by various metals. Data represent mean \pm sem, n=t, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.025$.

Heavy metal was administrated intraperitoneally once a day for three consecutive days and rats were sacrificed 24 hrs. later. Cu^{2+} of rat kidney homogenized with PBS(pH 7.0) was measured by atomic absorption spectrophotometer.

실험결과

중금속 투여후 간 및 콩팥에서의 구리 및 아연 분포
- 구리, 아연 및 카드뮴을 단독 투여하거나 구리 선투

여후 카드뮴 투여 그리고 아연 선투여후 카드뮴 투여군의 간 및 콩팥에서의 구리 및 아연 함유량을 측정하였다. 간 및 콩팥에서의 구리에 대한 측정결과, Fig. 1 및 Fig. 2에서와 같이 구리만을 투여했을때 간에서 구리량이 증가하였고 콩팥에서도 약간 증가하였으며 구리 선

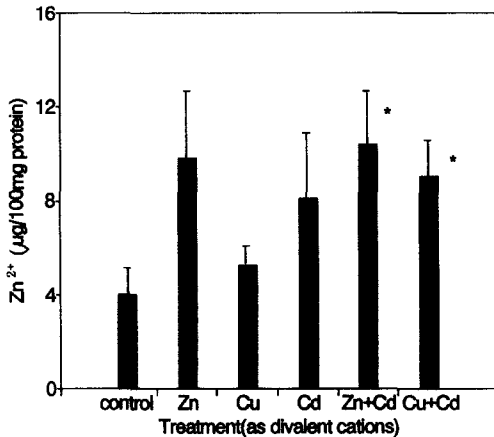


Fig. 3—Amount of Zn²⁺ in rat liver after treatment by various metals. Data represent mean±sem, n=5, *: p<0.1.

Heavy metal was administrated intraperitoneally once a day for three consecutive days and rats were sacrificed 24 hrs. later. Zn²⁺ of rat liver homogenized with PBS(pH 7.0) was measured by atomic absorption spectrophotometer.

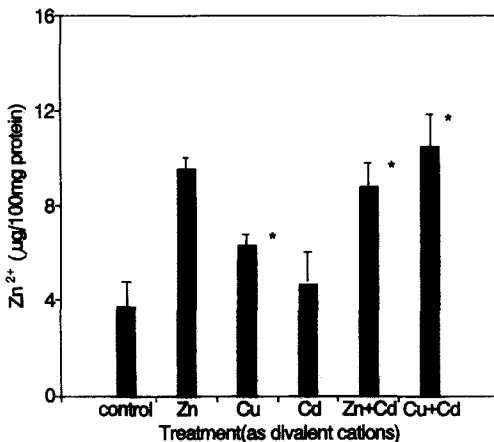


Fig. 4—Amount of Zn²⁺ in rat kidney after treatment by various metals. Data represent mean±sem, n=5, *: p<0.01.

Heavy metal was administrated intraperitoneally once a day for three consecutive days and rats were sacrificed 24 hrs. later. Zn²⁺ of rat kidney homogenized with PBS(pH 7.0) was measured by atomic absorption spectrophotometer.

투여후 카드뮴 투여시에는 간에서 구리를 단독 투여한 경우보다 구리량이 훨씬 적었으며 콩팥에서는 구리를 단독투여한 경우보다 구리량이 약간 많았다. 카드뮴만 투여시 아연만 투여한것 보다는 구리량이 간에서는 약간 증가하였으나 콩팥에서는 거의 유사하였다. 아연 선투여후 카드뮴을 투여한 경우에는 간에서 아연만을 투여한 군보다 구리 함유량이 약간 증가하는 경향을 보이고 있으나 콩팥에서는 상당한 증가를 보이고 있다. 아연에 대한 간 및 콩팥에서의 측정 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 간에서는 아연 선투여후 카드뮴 투여군에서 아연 함유량이 가장 높았으며 그 다음이 아연 단독 투여군, 구리 선투여후 카드뮴 투여군, 카드뮴 단독 투여군 순서였으며 구리 투여군에서 아연농도가 가장 낮았다. 콩팥에서의 아연 함유량은 Fig. 4에서와 같이 구리 선투여후 카드뮴 투여군에서 가장 높았으며 그 다음이 아연 단독 투여군, 아연 선투여후 카드뮴 투여군, 구리 단독 투여군 순서였으며 카드뮴 투여군에서 아연 농도가 가장 낮게 나타났다.

카드뮴 투여후 소변내 카드뮴, 구리 및 아연분포 - 카드뮴을 연속 3일간 투여후 30일간 배설되는 소변에 함유하는 카드뮴량을 측정한 결과, 카드뮴 주사후 30일간 카드뮴이 전혀 검출되지 않았다. 한편 소변에서의 아연량을 측정한 결과, Fig. 5에서와 같이 정상군의 경우 0.7 ppm이었으나 계속량이 감소되다가 7일 후에 약간 아연량이 높아졌는데 16일 쯤 다시 감소하기 시작하였

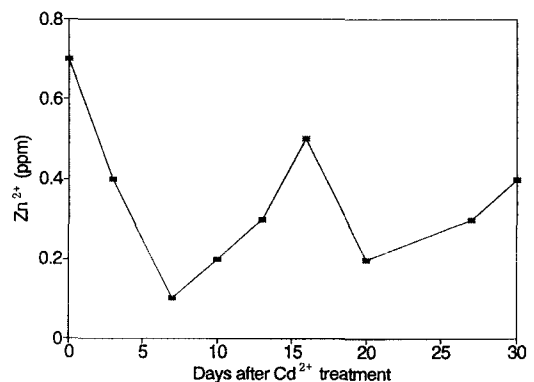


Fig. 5—Change of Zn²⁺ in urine of rats during 1 month after Cd²⁺ treatment.

Cd²⁺ was administrated intraperitoneally once a day for three consecutive days and urine samples after last administration were collected every 3 or 5 days during 1 month. Zn²⁺ of urine was measured by atomic absorption spectrophotometer.

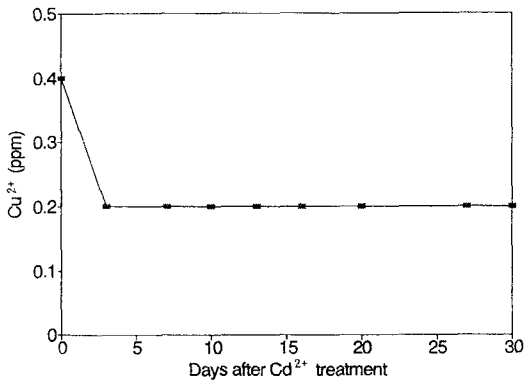


Fig. 6—Change of Cu^{2+} in uringe of rats during 1 month after Cd^{2+} treatment. Cd^{2+} was administered intraperitreally once a day for three consecutive days and urine samples after last administration were collected every 3 or 5 days during 1 month. Cu^{2+} of urine was measured by atomic absorption spectrophotometer.

으며 20일 째에 다시 높아지는 양상을 보이고 있으나 30일이 지난 후에도 정상으로 아연량이 회복되지 않고 있었다. 또한 소변에서의 구리량을 측정한 결과, Fig. 6에서와 같이 정상군의 경우 0.4 ppm이었으나 카드뮴 주사후부터 30일 간의 소변에서는 정상 소변치보다 낮은 0.2 ppm을 나타내고 있어 30일 후에도 소변내의 구리 함유량이 정상으로 회복되지 않고 있었다.

고 찰

중금속 투여후 간 및 콩팥에서의 구리 및 아연 분포

사람의 체내에 적은양으로 존재하는 중요한 무기질을 미량필수금속이라고 하며 구리, 아연, 철, 요드, 세륨, 크롬 등 15종류가 있다. 이들 금속은 미량으로 생체에 꼭 필요하고 여러가지 생리기능에 관여하지만 다량 존재시 독성을 나타낸다. 이중 구리는 cytochrome C oxidase, superoxide dismutase 등 여러 금속 효소의 성분으로 결핍시 정신발육장애, 골형성이상등을 일으키나 체내 축적량이 증가하면 간장, 뇌신경, 각막이 손상된다. 아연도 구리와 마찬가지로 Metallothionein(MT)이라는 단백질에 의해 운반된 뒤 Alkaline phosphatase, Thiamine kinase 등 많은 효소에 함유되어 생체내 대사에 관여하고있다. 카드뮴도 표적기관에 흡수되거나 축적시 MT와 결합되며 이상태는 세포내에서 non-toxic 형태로 알려져있다.^{14, 15)}

또한 카드뮴은 아연과 더불어 천연에서 산출되므로 아연광산이나 제련소 주변에서 카드뮴에 의한 itai-itai공해병과 같은 질병의 발생 가능성이 있으며 생체내 카드뮴, 아연 및 구리 상호 간에 영향이 있을 거라고 생각된다. 따라서 구리, 아연 및 카드뮴을 단독 투여하거나 구리 선투여후 카드뮴투여 그리고 아연 선투여후 카드뮴 투여시 조직중 카드뮴은 카드뮴 단독 투여시 간에서만 검출되었는데 약 2.8 ppm을 나타내었다.

아연 및 구리 단독 투여에서 카드뮴이 검출되지 않은 것은 당연하다고 사료되나 아연 및 구리를 선투여후 카드뮴 투여군에서 카드뮴이 검출되지 않은 것은 아연 및 구리 선투여시 유도 생성된 Thionein에 의해 Cd-thionein형성에 의한 것으로 생각된다.

간에서 구리와 아연 양의 변화를 보면 구리나 아연 투여는 상호 금속 이온에 큰 변화를 주지 못했으며 카드뮴 투여는 두 금속에 영향을 주었는데 특히 아연 농도에 보다 큰 영향을 주었다. 구리나 아연을 선투여 후 카드뮴 투여시 구리 단독 투여보다 구리양이 적게 검출되었고 아연의 경우는 거의 같은 양이 검출되었는데 이는 구리에 의해 생성된 Cu-MT에 영향을 주는 것으로 생각되거나 정확한 것은 보다 많은 연구와 자료가 필요하다고 본다.

콩팥에서 구리와 아연의 변화는 구리나 아연의 단독 투여시 상호 금속에 큰 영향을 주지 못했으며 카드뮴 단독 투여도 구리나 아연의 본래 농도에 큰 영향을 주지 못했다. 그러나 아연이나 구리 선 투여 후 카드뮴 투여시 아연 농도는 아연 단독 투여시와 비슷하였는데 구리 농도는 구리 단독 투여시 보다 크게 증가되었다. 따라서 간에서는 카드뮴 단독 투여시 아연 농도에 변화를 주고 콩팥에서는 아연이나 구리 선 투여시 구리 농도에 변화를 주었다. 따라서 중금속 투여는 종류에 따라 간과 콩팥에서의 금속의 농도 변화를 각기 달리함을 알 수 있었다. Goering과 Klaassen¹⁶⁾에 의하면 카드뮴을 선투여하고 24시간후에 카드뮴 치사 독성선량을 투여하면 카드뮴 내성이 생기는데 이는 카드뮴 선투여에 의해 MT가 합성되기 때문이며 카드뮴의 조직내 분포도 달라짐을 밝혔다. 즉 간세포의 카드뮴 분포도를 보면 핵, 미토콘드리아, 소포체 및 세포체 및 세포질의 고분자량 단백질에서는 카드뮴 농도가 낮았으며 세포질의 MT와 결합된 카드뮴 농도는 훨씬 높았다. 또한 카드뮴에 의하여 간 및 콩팥의 아연 증가, 콩팥의 구리 증가 및 간의 구리 감소는 MT의 생성에 관여됨을 보고하고 있다.^{17, 18)} 이

와같이 조직내 카드뮴 및 중금속의 농도는 MT합성, 카드뮴의 고분자량 단백질 결합 및 유도 단백질 합성에 크게 관여할 것으로 사료된다. 또한 Besten등에¹⁹⁾ 의하면 카드뮴을 직접 및 간접 피폭시킨 불가사리의 pyrolic caeca 카드뮴량은 직접 피폭이 간접 피폭보다 높았으며 아연치는 모두 30퍼센트 감소됨을 보고하였는데 이는 MT 유사 단백질로 부터 아연 치환과 관련이 있으며 구리치는 직접 피폭에서 증가되고 난소에는 높은 아연 함유량을 보고하고 있다. 이와같이 카드뮴 피폭 정도에 따라 조직내의 금속 조성에 서로 다른 영향을 줄 수 있음을 보고하고 있다. 본 실험 결과에서는 카드뮴 피폭에 의해 흰쥐의 간과 콩팥에서 아연량이 증가함을 알 수 있었으며 구리량은 별 영향을 주지 않았으나 상기 연구결과와는 아연과 구리에서 다른 결과를 나타내고 있다. 이것은 아마도 실험재료가 다르며 불가사리의 난소에서는 아연이 증가하는 것으로 보아 조직과 실험재료간에 카드뮴 피폭 영향이 서로 다를 것으로 생각된다. 또한 Suzuki등²⁰⁾에 의하면 카드뮴을 4주간 주사했을때 처음 2주는 간의 아연농도가 증가하다가 그후 감소하였으며 구리는 정상 조직보다 다소 낮은 일정한 농도를 유지하였으나 간이 커지면서 구리량은 증가되었고 철분의 농도는 카드뮴 주사에 의해 감소함을 나타내었다. 상기 결과와 본 실험 결과로서 카드뮴 투여는 조직내 필수 원소를 포함한 조직내의 금속 조성에 상당한 영향을 미침을 알 수 있었다.

카드뮴 투여후 소변내 카드뮴, 구리 및 아연 분포

카드뮴 투여군에서 카드뮴을 비롯하여 아연 및 구리의 배설 관계를 알기 위해 흰쥐의 소변으로부터 카드뮴, 아연 및 구리 농도를 측정된 결과, 카드뮴은 투여 후 30일까지 전혀 검출되지 않았다. 아연의 경우 정상치가 0.7 ppm이었는데 카드뮴 처리후 계속 감소되어 일주일 이내에 0.1 ppm으로 감소되었으며 그후에는 약간 회복되다가 20일째 감소되면서 다시 회복되는 양상을 보여주고 있다. 또한 구리는 정상치가 0.4 ppm이었는데 카드뮴 투여후 3일째 감소되어 0.2 ppm을 나타냈으며 30일째까지 계속 0.2 ppm을 나타내고 정상치로 회복되지 않았다. 이 결과로 볼 때 카드뮴에 의해 구리 및 아연과 같은 필수 원소의 생체내 변화를 초래함을 알 수 있었으며 아연은 한달 후에 점차 정상으로 회복됨을 보여 주고 있으나 구리는 한달 후에도 정상으로 회복되지 않고 있으므로 카드뮴에 의한 중금속

의 생체내 변화는 장기간의 회복 기간이 필요함을 알 수 있었다.

문 헌

- 1) Engvall, J. and Perk, J. : Prevalence of hypertension among cadmium-exposed workers. *Archs. Envir. Health*, **409**, 185 (1985).
- 2) Koivistoinen, P., Ahlstrom, A., Varo, P. and Nissinen, H. : Mineral element composition of finnish vegetables, fruits and berries. *Agric. Scand. Suppl.* **2**, 131 (1974).
- 3) Nomiyama, K. : Recent progress and perspectives in cadmium health effects studies. *Sci. Total Envir.* **14**, 199 (1980).
- 4) Moore, W. Jr., Stara, J. F. and Crocker, W. C. : Gastrointestinal absorption of different compounds of 115m cadmium and the effect of different concentrations in the rat. *Environ. Res.* **6**, 159 (1973).
- 5) Vallee, B. L. and Ulmer, D. D. : Biochemical effects on mercury, cadmium and lead. *Ann. Rev. Biochem.* **41**, 91 (1972).
- 6) Takabatake, E. : Experimental studies on human. In *cadmium studies in Japan* (K. Tsuchiya, ed). p. 129, Kodasha, Tokyo (1978).
- 7) Friberg, L., Kjellstrom, T., Nordberg, G. F. and Piscator, M. : In *Handbook on the Toxicology of Metals*. p. 355, Biomedical Press, Elsevier, North Holland, Amsterdam-New york-oxford. (1979).
- 8) Morselt, A. F. W. : Environmental pollutants and disease: a cell biological approach using chronic cadmium exposure in the animal model as a paradigm case. *Toxicology* **70**, 1 (1991).
- 9) Nath, R., Prasad, R., Palinal, V. K., and Chopra, R. K. : Molecular basis of cadmium toxicity. *Prog. Food Nutr. Sci.* **8**, 109 (1986).
- 10) Kagi, J. H. R. and Schagger, A. : Biochemistry of metallothionein. *Biochemistry* **27**, p. 8509 (1988).
- 11) Chellman, G. J. : Resistance to cadmium-induced necrosis in testis of inbred mice: Possible role of a metallothionein-like cadmium-binding protein. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **7**, 511 (1985).
- 12) Recknagel, R. O. and Glende, E. A. Jr. : Carbontetrachloride. An example of lethal cleavage.

- CRC Crit. Rev. Toxicol.* **2**, 263 (1973).
- 13) Bradford, M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248 (1976).
 - 14) Frazier, J. M. : The role of Metallothionein in the systemic distribution of cadmium. In Foulke, E. C.(ed.) *Biological Roles of Metallothionein* Elsevier, North-Holland, New york, p. 141 (1982).
 - 15) Webb, M. : Toxicological significance of metallothionein. In Kagi, J. H. R. and Kojima, Y. (eds.), *Metallothionein II* Birkhauser Verlag, Basel, p. 109 (1987).
 - 16) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Altered subcellular distribution of cadmium following cadmium pretreatment: possible mechanism of tolerance of cadmium-induced lethality. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **70**, 195 (1983).
 - 17) Tandon, S. K. and Tewari, P. C. : Effect of co-exposure to ethanol and cadmium in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **39**, 633 (1987).
 - 18) Yasumasa, K., Terumasa, N. and Masayuki, T. : Influence of cadmium on the distribution of the essential trace elements zinc and copper in the liver and kidneys of rats. *Biol. Trace Ele. Res.* **14**, 237 (1987).
 - 19) Besten, P. J., Bosma, P. T., Herwig, H. J., Zandee, D. I. and Voogt, P. A. : Effects of cadmium on metal composition and adenylate energy charge in the sea star *Asterias rubens* L. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **21**, 112 (1991).
 - 20) Suzuki, K. T., Yamamura, M., Yanada, Y. K. and Shimizu, F. : Distribution of cadmium in heavily cadmium-accumulated rat liver cytosols: metallothionein and related cadmium-binding proteins. *Toxicol. Lett.* **8**, 105 (1981).