

## 전처치 기간에 따른 흰쥐의 조직내 카드뮴 및 metallothionein 생성에 관한 연구

김 남 송

원광대학교 의과대학 예방의학교실

### A Study on the Concentrations of Cadmium and Metallothionein in the Tissues of Rats in Relation to the Duration of Pretreatment

Nam Song Kim

Department of Preventive Medicine and Public Health Wonkwang University Medical School

(Received April 8, 1997)

(Accepted April 20, 1997)

**ABSTRACT :** This study was performed to investigate the effects of cadmium chloride on the acute and chronic toxicity on rats. Several toxic effects of cadmium has been shown following short-term and long-term pretreatment with cadmium and zinc. Four groups of rats (A, B, C, D), each consisting of 16 rats, were studied and each group was divided into four subgroups (1, 2, 3, 4), 4 rats for each subgroup. Rats were subcutaneously pretreated with CdCl<sub>2</sub> (0.5 mg/kg, A & C), and ZnCl<sub>2</sub> (13.0 mg/kg, B & D) during time periods of 1 weeks (group A & B) and 6 weeks (group C & D). At the end of the period, rats were challenged with CdCl<sub>2</sub> (3.0, 6.0 and 9.0 mg/kg, i.p.). After giving the challenge dose, cadmium and metallothionein(MT) concentrations were determined. The concentrations of cadmium were higher in the liver than the kidney irrelevantly to cadmium and zinc pretreatment and increased dose-dependently to the challenge dosage. The metallothioneins showed higher concentrations in the liver than the kidney following cadmium pretreatment and were higher in the long-term pretreatment groups than the short-term pretreatment groups in the liver and the kidney of rats. These data suggest that metallothioneins are induced preferentially in the liver by pretreatment of cadmium and then, formed in the form of Cd-MT, may play an important role in the nephrotoxicity.

**Key Words :** Cadmium, Metallothionein, Concentration, Pretreatment, Liver, Kidney

## I. 서 론

급속한 산업발달로 인한 각종 오염물질의 생태계로의 유입과 환경오염으로 인한 생물학적 농축은 생물의 생존뿐만 아니라 다양한 독성으로 사회적 문제를 야기하고 있다. 특히 중금속은 이미 인간에게 오래전부터 알려진 독성물질이며 독성학적으로 주요 관심의 대상이 되고 있다(Goyer, 1996).

카드뮴은 노출되는 양(Cherian 등, 1978), 폭로기간(Sendelbach와 Klaassen, 1988), 및 체내침입경로(Goyer, 1996; Hammond와 Foulkes, 1994) 등에 따라 다양한 독성을 나타내는데, 일반적으로 신기능장애, 간조직손상, 중추신경장애, 고혈압, 골연화증 등을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 최근에는 미량의 카드뮴

에 만성노출시킨 동물에서 고환조직손상, 생식독작용 및 발암작용이 보고된 바 있다(Itokawa, 1973; Faeder, 1977; Dudley 등, 1982; Goyer, 1996).

카드뮴의 대표적 표적장기로는 급성중독시 간장과 고환, 만성중독시 신장으로 알려져 있다(Goering과 Klaassen, 1984; Dudley 등, 1985; Goyer, 1996; Hammond와 Foulkes, 1994; Agarwal, 1988; Sendelbach와 Klaassen, 1988).

일반적으로 유해중금속이 생체내 흡수되었을 경우 각 표적장기의 세포에서는 중금속의 지질과산화반응으로 유리된 free oxygen radical의 공격에 대해서 superoxide dismutase(SOD)나 catalase와 같은 scavenger를 합성하여 방어하기도 하고(Stacey와 Klaassen, 1981), 다른 한편으로는 그 금속에 특이적으로 결합하는 물질들의 합성을 촉진하거나 새로운 물질을 합성하므로써 세포에 미치는 독성을 경감하는데(Squibb와 Cousins,

\*이 논문은 1996년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 이루어졌음.

1974; Webb와 Etienne, 1975; Probst 등, 1977) 후자의 경우 metallothionein(이하 MT로 약함)로 약이 관여하는 것으로 보고되고 있다(Dudley 등, 1985; Jin 등, 1987; Sendelbach와 Klaassen, 1988).

Metallothionein(MT)은 카드뮴, 수은 및 아연 등 중금속과 친화력이 높은 저분자량 복합단백질로서(Chri안과 Goyer, 1979) 정상상태의 조직에는 미량으로 존재하나 스트레스, 기아, glucocorticoid투여 및 중금속노출 등의 요인에 의해 합성이 증가되며, 중금속의 저장, 운반, 해독 및 필수금속의 대사에 관여하고 있다(Onosaka 등, 1984; Dunn 등, 1987). 특히 소량의 중금속은 MT생성을 유도하는 가장 강력한 요인이며, 카드뮴, 수은, 아연 및 구리 등 2가 중금속은 대표적인 MT 유도체로 알려져 있다.

MT의 생화학적 특성에 관한 연구와 함께 조직내 MT를 분석하기 위한 여러 방법(Olafson과 Sim, 1979; Eaton과 Toal, 1982; Onosaka와 Cherian, 1982; Scheuhammer와 Cherian, 1986)이 제시되고 있으며, 최근에는 생물학적 기능과 관련하여 중금속독성에 대한 MT의 방어기전을 밝히기 위한 연구들(Goering과 Klaassen, 1984a, b; Chung 등, 1986; Clarke와 Lui, 1986; Goyer, 1996; Dunn 등, 1987)도 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서는 인위적으로 저농도의 카드뮴과 아연을 흰쥐에 단기간 및 장기간 피하주사한후 고농도의 카드뮴을 여러 농도로 복강투여하여 투여기간, 투여농도 및 카드뮴과 아연 투여에 따른 간장과 신장내 카드뮴 축적량 및 MT 농도 차이를 비교함으로써 흰쥐의 카드뮴독성에 대한 기초자료를 제공하고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 재료

실험동물은 생후 10-12주된 체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 총 64마리를 단기간(A, C) 및 장기간 실험군(B, D)으로 구분하여 각각 32마리씩 사용하였다. 실험시작 2주전부터 온도와 습도를 적정상태로 유지하고 물과 사료를 자유로이 섭취할수 있게 하면서 환경에 적응시켰다. 실험재료로 사용한 카드뮴은 cadmium chloride(CdCl<sub>2</sub>, Sigma chemical Co.), 아연은 zinc chloride(ZnCl<sub>2</sub>, Sigma chemical Co.)로 모두 생리적식염수에 용해시켜 사용하였다.

### 2. 실험동물군 및 투여방법

단기간 실험은 32마리의 흰쥐에 CdCl<sub>2</sub> 0.5 mg/kg(A

1), 또는 ZnCl<sub>2</sub> 13.0 mg/kg(C1)을 5일간 각각 피하주사한 후 7일째 CdCl<sub>2</sub> 3.0 mg/kg(A2, C2), 6.0 mg/kg(A3, C3), 9.0 mg/kg(A4, C4)을 각각 복강내로 1회씩 주사하였다.

장기간 실험은 32마리의 흰쥐에 CdCl<sub>2</sub> 0.5 mg/kg(B1), 또는 ZnCl<sub>2</sub> 13.0 mg/kg(D1)을 1주간 각각 피하주사하고 다음 1주간 처리를 중지한 다음 이상의 과정을 3회 반복하여 7주째 CdCl<sub>2</sub> 3.0 mg/kg(B2, D2), 6.0 mg/kg(B3, D3), 9.0 mg/kg(B4, D4)을 각각 복강내로 1회씩 주사하였다(Table 1).

장기간 및 단기간 실험 모두 마지막 주사후 48시간이 경과한 다음 전개체를 도살하여 간장과 신장을 적출하였으며, 조직의 일부를 카드뮴과 MT 농도측정에 사용하였다.

본 연구에서 투여한 카드뮴과 아연의 용량 및 투여기간은 본 실험에 앞서 실시한 예비실험과 Eaton과 Toal(1982), Goering과 Klaassen(1984), Dudley 등(1985) 및 Jin 등(1987)의 연구를 참고로 하여 결정하였다.

MT 농도의 측정에 사용할 hemolysate는 실험과 무관한 랫트를 흉강 절개하고 심장천자에 의해 채취한 혈액으로 제조하였다.

### 3. 조직중 카드뮴 농도의 측정

간장 1 g과 신장 0.5 g 정도를 각각 취하여 생리적식염수로 세척한 후 일본약학회편의 위생시험법과 환경청의 환경오염공정시험법을 혼용한 질산-황산-과염소산 분해법에 따라 가열 분해시켰다. 유기물 분해를 마친 시료에 증류수 50 ml와 B.T.B.용액 3방울을 떨어뜨린 후, 암모니아수를 이용하여 pH 9.5로 적정하였다. 여기에 ammonia sulfate 용액(40% w/v) 100 ml를 넣고 diethyl dithiocarbamate-methyl isobutyl ketone(DDTC-

**Table 1.** The experimental schedule of cadmium toxicity test in liver and kidney of rats by short-term and long-term pretreatment

Group <sup>#</sup>	Pretreatment(s.c.) <sup>a</sup>	Treatment(i.p.) <sup>b</sup>
	Cd(0.5 mg/kg) /Zinc(13.0 mg/kg)	Cd(3.0, 6.0, 9.0 mg/kg)
short-term(A,C)	1st-5th day(subgroup 1) <sup>c</sup>	7th day(subgroup 2,3,4)
long-term(B,D)	1st-5th week(subgroup 1)	7th week(subgroup 2,3,4)

<sup>#</sup>Group : Four groups of rats (A,B & C,D), each consisting of 16 animals, were studied and each group was divided into four subgroups (1, 2, 3, 4), 4 animals for each subgroup.

<sup>a</sup>(s.c.) : Pretreatment by subcutaneous injection.

<sup>b</sup>(i.p.) : Challenge treatment by intraperitoneal injection for 1 day.

<sup>c</sup>Subgroup 1 was given no further treatment after pretreatment.

MIBK)을 사용하여 chelate 화합물을 유출하였다. 유출된 MIBK를 90°C 열판위에서 휘산시키고 남은 chelate 화합물에 질산-과염소산을 소량 가한 후 다시 산을 휘산시킨 다음 0.1 N 염산용액을 가하여 최종 5 ml를 만들어서 측정용 시료로 사용하였다. 사용된 시약은 유해금속측정용과 원자흡광분석용 이었으며 측정은 원자흡수분광광도계(IL551), 가스는 air-acetylene 이었다.

#### 4. 조직중 Metallothionein의 농도 측정

실험방법은 Onosaka 등(1978)의 방법을 수정한 Eaton과 Toal(1982)의 Cd/hemoglobin affinity법을 참고하여 다음과 같이 실시하였다.

간조직 1 g과 신장조직 0.5 g을 각각 취하여 생리적 식염수로 세척한 다음 4 vol.의 0.25 M 설탕용액(sucrose, Sigma)을 가하면서 teflon glass homogenizer를 이용하여 균질화시키고 18,000 g, 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<sub>2</sub>(standard solution) 1 ml로 포화시키고 실온에서 5분간 배양하였다. 여기에 rat RBC hemolysate 0.2 ml를 첨가한 후 100°C 수욕탕에 1분간 정치시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 1,000 g(Beckman, room temperature)로 원심분리하여 상층액을 취하였다.

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

### III. 결 과

#### 1. 카드뮴 농도

전처치후 복강투여 농도의 증가에 따라 지속적으로 증가하는 경향을 보였으며, 간장의 카드뮴 농도는 장기 실험군에 비하여 단기 실험군에서 높은 농도를 보이고 신장의 카드뮴 농도는 단기 실험군에 비하여 장기 실험군에서 높은 농도를 보였다. 전처치에 따른 카드뮴 농도는 간장과 신장 공히 아연 전처치군에 비하여 카드뮴 전처치군에서 높은 농도를 보였다(Fig. 1).

##### 1) 카드뮴 전처치에 의한 카드뮴 농도

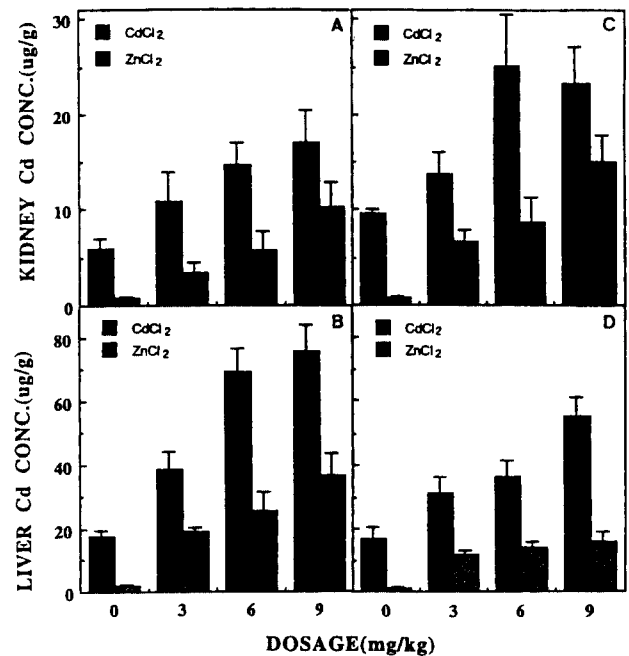


Fig. 1. Concentrations of cadmium (Cd) in liver and kidney of rats given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl<sub>2</sub> after short-term (A & B) and long-term (C & D) subcutaneous pre-treatment (CdCl<sub>2</sub> 5.0 mg/kg, ZnCl<sub>2</sub> 13.0 mg/kg).

단기간 실험과 장기간 실험 모든 군에서 신장의 농도에 비하여 간장에서 높은 농도를 보였으며, 전처치 후 복강투여 농도의 증가에 따라 간장의 경우, 장기간 실험군에 비하여 단기간 실험군에서 높은 농도를 보이고 신장의 경우, 단기간 실험군에 비하여 장기간 실험군에서 높은 농도를 보였다(Table 2).

#### 2) 아연 전처치에 의한 카드뮴 농도

단기간 실험과 장기간 실험 모든 군에서 신장의 농도에 비하여 간장에서 높은 농도를 보였으며, 간장의 경우, 복강투여 농도의 증가에 따라 장기간 실험군 보다는 단기간 실험군에서 높은 농도를 보였다(Table 3).

#### 2. Metallothionein(MT) 농도

전처치후 복강투여 농도의 증가에 따라 간장의 아연 전처치군의 경우 장기간 실험군에 비하여 단기간 실험군에서 높은 MT 농도를 보였으며, 신장의 경우, 단기간 실험군에 비하여 장기간 실험군에서 높은 MT 농도를 보였다. 장기간 실험군의 신장내 MT 농도를 제외하고는 아연 전처치군에 비하여 카드뮴 전처치군에서 높은 농도를 보였다(Fig. 2).

##### 1) 카드뮴 전처치에 의한 MT 농도

**Table 2.** The effects of short-term and long-term CdCl<sub>2</sub> pretreatment on the concentrations of cadmium in the rat liver and kidney after 24 hours of intraperitoneal injection by various dosages of CdCl<sub>2</sub>

Group Subgroup <sup>b</sup>	Short-term (A)				Long-term (B)			
	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
Liver*	17.6 <sup>a</sup> ±2.0	38.4±5.6	69.1±7.3	75.5±8.7	16.9±3.5	31.2±5.0	36.6±4.8	54.8±6.2
Kidney*	5.9±1.1	10.9±3.1	14.8±2.3	17.1±3.4	9.6±0.4	13.7±2.5	25.2±5.4	23.3±3.9

<sup>a</sup>Values represent Mean±S.D.(ug/g) of four rats per subgroup.

A : Short-term pretreated group for 5 days (0.5 mg/kg as CdCl<sub>2</sub>).

B : Long-term pretreated group for 5 weeks (0.5 mg/kg as CdCl<sub>2</sub>).

<sup>b</sup>Subgroup 1 was given no further treatment after pretreatment. Subgroup 2, 3 and 4 were given challenge doses of 3.0, 6.0 and 9.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

\*p<0.05, between treatment of duration(short-term and long-term pretreatment) and concentrations of cadmium in tissues which are revealed by ANOVA.

**Table 3.** The effects of short-term and long-term ZnCl<sub>2</sub> pretreatment on the concentrations of cadmium in the rat liver and kidney after 24 hours of intraperitoneal injection by various dosages of CdCl<sub>2</sub>

Group Subgroup <sup>b</sup>	Short-term (C)				Long-term (D)			
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>
Liver*	1.9 <sup>a</sup> ±0.4	18.8±1.5	25.4±6.3	36.6±6.9	0.9±0.2	11.5±1.4	14.0±1.8	15.8±3.1
Kidney	0.7±0.2	3.4±1.1	5.7±2.0	10.3±2.6	0.8±0.2	6.7±1.3	8.8±2.4	15.1±2.7

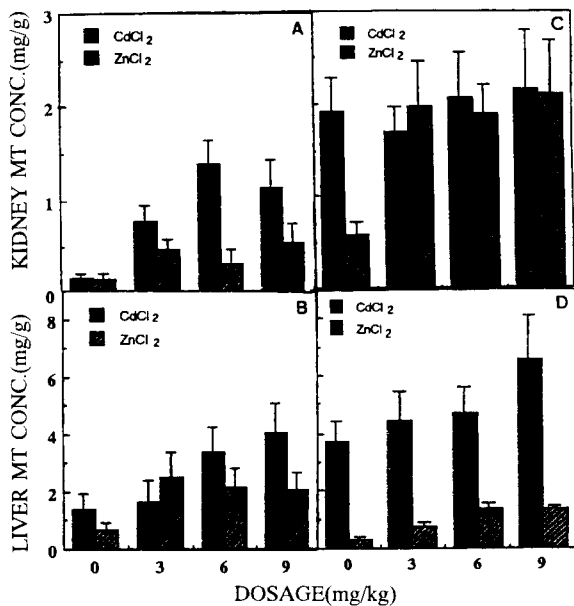
<sup>a</sup>Values represent Mean±S.D.(ug/g) of four rats per subgroup.

C : Short-term pretreated group for 5 days (13.0 mg/kg as ZnCl<sub>2</sub>).

D : Long-term pretreated group for 5 weeks (13.0 mg/kg as ZnCl<sub>2</sub>).

<sup>b</sup>Subgroup 1 was given no further treatment after pretreatment. Subgroup 2, 3 and 4 were given challenge doses of 3.0, 6.0 and 9.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

\*p<0.05, between treatment of duration (short-term and long-term pretreatment) and concentrations of cadmium in tissues which are revealed by ANOVA.

**Fig. 2.** Concentrations of metallothionein (MT) in liver and kidney of rats given intraperitoneal administration of various dosages of CdCl<sub>2</sub> after short-term (A&B) and long-term (C&D) subcutaneous pretreatment(CdCl<sub>2</sub> 0.5 mg/kg, ZnCl<sub>2</sub> 13.0 mg/kg).

신장의 농도에 비하여 간장에서 높은 농도를 보였으며, 전처치후 복강투여 농도의 증가에 따라 간장과 신

장 공히 단기간 실험보다는 장기간 실험에서 높은 농도를 보였다(Table 4).

## 2) 아연 전처치에 의한 MT 농도

전처치후 복강투여 농도의 증가에 따라 간장의 경우, 장기간 실험에 비하여 단기간 실험에서 높은 MT 농도를 보이고, 신장의 경우, 단기간 실험에 비하여 장기간 실험에서 높은 농도를 보였다. 단기간 실험의 경우, 신장에 비하여 간장에서 높은 농도를 보이고, 장기간실험의 경우, 간장에 비하여 신장에서 높은 MT농도를 보였다(Table 5).

## IV. 고 찰

카드뮴은 대기, 토양, 물 및 식품에 다양한 화합물로 존재하며(Fassett, 1980; Chung, 1986), 환경내의 카드뮴이 생물체의 조직으로 흡수, 축적되는 양상은 카드뮴에 의한 특정 장기의 기능손상 및 병리조직학적 변화와 관련이 있으므로 독성기전의 연구에 앞서 깊은 관심을 불러 일으킨다.

유해중금속에 대한 독성학적 방어기전중 하나는 중

**Table 4.** The effects of short-term and long-term CdCl<sub>2</sub> pretreatment on the concentrations of metallothionein (MT) in the rat liver and kidney after 24 hours of intraperitoneal injection by various dosages of CdCl<sub>2</sub>

Group* Subgroup	Short-term (A)				Long-term (B)			
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>
Liver*	1.40 <sup>a</sup> ±0.56	1.65±0.73	3.38±0.86	4.05±1.02	3.71±0.68	4.39±1.06	4.67±0.92	6.57±1.53
Kidney*	0.17±0.05	0.78±0.16	1.39±0.25	1.14±0.29	1.93±0.35	1.70±0.27	2.05±0.51	2.16±0.64

<sup>a</sup>Values represent Mean ± S.D.(mg/g) of four rats per subgroup.

A : Short-term pretreated group for 5 days (0.5 mg/kg as CdCl<sub>2</sub>).

B : Long-term pretreated group for 5 weeks (0.5 mg/kg as CdCl<sub>2</sub>).

<sup>b</sup>Subgroup 1 was given no further treatment after pretreatment. Subgroup 2, 3 and 4 were given challenge doses of 3.0, 6.0 and 9.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

\*p<0.05, between treatment of duration(short-term and long-term pretreatment) and concentrations of MT in tissues which are revealed by ANOVA.

**Table 5.** The effects of short-term and long-term ZnCl<sub>2</sub> pretreatment on the concentrations of metallothionein (MT) in the liver and kidney after 24 hours of intraperitoneal injection by various dosages of CdCl<sub>2</sub>

Group* Subgroup	Short-term (C)				Long-term (D)			
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>
Liver*	0.64 <sup>a</sup> ±0.27	2.53±0.85	2.17±0.63	2.06±0.59	0.30±0.06	0.76±0.12	1.37±0.18	1.34±0.09
Kidney*	0.16±0.06	0.47±0.11	0.31±0.17	0.53±0.21	0.58±0.14	1.97±0.48	1.88±0.33	2.11±0.57

<sup>a</sup>Values represent Mean ± S.D.(mg/g) of four rats per subgroup.

C : Short-term pretreated group for 5 days (13.0 mg/kg as ZnCl<sub>2</sub>).

D : Long-term pretreated group for 5 weeks (13.0 mg/kg as ZnCl<sub>2</sub>).

<sup>b</sup>Subgroup 1 was given no further treatment after pretreatment. Subgroup 2, 3 and 4 were given challenge doses of 3.0, 6.0 and 9.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

\*p<0.05, between treatment of duration(short-term and long-term pretreatment) and concentrations of MT in tissues which are revealed by ANOVA.

금속에 특이적으로 결합하는 물질들의 합성을 촉진함으로써 세포에 미치는 독성을 경감시키는 것으로 알려진 metallothionein(MT)이 있다(Squibb와 Cousins, 1974; Probst 등, 1977a, b)

MT는 61개의 amino acid로 구성되어 있고 이중 20개가 cysteine이며 금속 7 g atom과 결합되어 있는 저분자량 금속결합 단백질(metalloprotein)로서 7 g의 atom은 three metal cluster와 four metal cluster로 존재하면서 three metal cluster는 아연과 구리 등 필수금속의 조절과 대사에 관여하고 four-metal cluster는 Cd<sup>2+</sup>을 포함한 유해중금속을 sequester하는 것으로 알려져 있다(Cherian과 Goyer, 1978; Hunt 등, 1984).

Dudley 등(1985)은 CdCl<sub>2</sub> 0.5 mg/kg을 랫트에 26주 동안 피하주사하여 조직내 카드뮴 축적 및 MT의 농도를 조사하고 투여기간에 따른 표적장기의 변화를 관찰한 바, 간장과 신장내 카드뮴 및 MT 농도는 지속적으로 증가하여 10-12주째 최고농도에 이른 다음, 완만한 증가를 보이고 조직학적으로는 신장 손상의 소견에 앞서 간장 손상의 소견이 있었다고 보고 하였다. 그리고 노출기간의 증가에 따라 간에서 신장으로의 표적장기 변화가 있었는데 이는 간에서 생성된 MT가 카드뮴과

결합하여 Cd-MT 복합체를 형성하고 혈액을 통하여 신장의 뇨세관에 침착한 다음, Cd-MT 복합체가 다시 용해소체에 의해 분해되어 이때 방출된 카드뮴이온에 의해 신장조직이 손상을 받는다고 설명하고 있다. 따라서 생성된 MT가 조직의 중금속 독성을 경감시키는데 결정적인 역할을 담당함과 동시에 각 조직별로 MT생성능력에 따라 방어정도의 차이를 보이고 표적장기가 변화됨을 알 수 있다.

또한 Sendelbach와 Klaassen(1988)은 카드뮴의 형태에 따른 MT생성량의 차이를 보고하였는데, 이러한 차이는 주로 간장에 존재하는 카드뮴에 의해 생성되는 MT의 양에 비하여 주로 신장에 분포하는 카드뮴에 의해 생성될 수 있는 MT의 양이 현저하게 적고 신장에서 용해소체에 의해 분해된 카드뮴 이온이 매우 적은 양의 MT를 생성하기 때문에 만성 카드뮴 중독시 신장이 표적장기가 되고 급성중독시에는 간장이 표적장기가 된다는 것이다.

본 연구에서는 저농도의 카드뮴 및 아연을 장기간 혹은 단기간 전처치한 후 고농도의 카드뮴을 복강 투여하여 투여기간, 투여농도 및 카드뮴과 아연 전처치에 따른 조직내 카드뮴 축적과 MT 농도 변화를 조사

하였다. 카드뮴 농도는 카드뮴과 아연 전처치에 관계 없이 신장에 비하여 간장에서 높은 농도를 보임으로써 카드뮴이 일차적으로 간에서 축적됨을 보여주고 있으며 복강투여 농도의 증가에 따라 신장의 경우 단기간 실험군에 비하여 장기간 실험군에서 높은 축적을 보인 것은 간장에서 축적된 카드뮴이 혈행을 따라 신장으로 이동, 축적됨을 시사함으로써, 만성 카드뮴 중독시 신장이 표적장기가 되고 급성중독시에는 간장이 표적장기가 된다는 Dudley 등(1985)과 Sendelbach와 Klaassen(1988)의 의견을 잘 반영하고 있다.

본 실험에서 MT 농도는 카드뮴 전처치후 신장의 농도에 비하여 간장에서 높은 농도를 보이고, 복강투여 농도의 증가에 따라 간장과 신장 공히 단기간 실험보다는 장기간 실험에서 높은 농도를 보임으로써, 간장에 존재하는 카드뮴에 의해 생성되는 MT의 양에 비하여 주로 신장에 분포하는 카드뮴에 의해 생성될 수 있는 MT의 양이 현저하게 적고 신장에서 용해소체에 의해 분해된 카드뮴 이온이 매우 적은 양의 MT를 생성한다는 Sendelbach와 Klaassen(1988)의 결과와 잘 일치하고 있다.

본 실험의 전처치에 따른 MT 농도는 장기간 실험에 의한 신장내 MT 농도를 제외하고 아연 전처치군에 비하여 카드뮴 전처치군에서 높은 농도를 보였는데, 이는 저농도의 카드뮴 전처치가 아연 전처치에 비하여 고농도의 카드뮴 투여후 축적되는 카드뮴을 유효하게 떨어뜨리고 MT를 유도하는 강력한 작인임을 시사한다.

Jin 등(1987)은  $CdCl_2$ 를 0.5-2.0 mg/kg의 여러 농도로 1주에서 6주까지 피하주사한 후 고농도의 카드뮴을 투여하였는데, 그 결과 전처치의 기간이 길수록 신장조직내 MT농도는 현저하게 증가하는 것으로 보고하였다. 즉 1주간 전처치하고 고농도의 카드뮴을 투여한 경우, MT 농도는 0.79 mg/g에서 전처치 기간의 경과에 따라 6주째 1.98 mg/g으로 증가하였다. 이는 본 실험에서 0.5 mg/kg의  $CdCl_2$ 를 1주 및 6주간 전처치한 후 고농도의 카드뮴을 투여하여 나타난 1.14 mg/g, 2.16 mg/g의 MT 농도와 유사하여 전처치의 기간이 MT 농도를 결정하는 하나의 요인임을 시사하고 있다.

일반적으로 MT 생성에 있어 여러 요인중 중금속이 가장 강력한 유도체로 밝혀져 있지만(Cherian과 Goyer, 1979; Onosaka 등, 1984; Dunn 등, 1987), 중금속의 투여경로에 따라서도 그 형성정도에 차이가 있는 것으로 알려져 있다(Kotsonis와 Klaassen, 1977b; Maitani 등, 1986). Maitani 등(1986)은 마우스를 대상으로 정맥, 복강 및 피하주사 등의 3가지 경로로 아연을 투여

한 바 조직내 MT 농도의 차이가 있음을 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 피하주사 만의 단일경로로 카드뮴을 투여하였기 때문에 투여경로에 따른 조직내 MT 생성량의 차이를 추정할 수 없었다.

이상의 카드뮴중독에 대한 MT의 방어효과는 본 연구의 결과와 다른 연구자들의 연구를 종합해볼때, 조직내 카드뮴의 축적농도, MT농도는 투여기간, 투여농도 및 전처치의 종류에 따라 밀접한 연관성을 보임으로써 향후 조직내 이들간의 관계는 물론 조직학적 연관성과 혈액 및 뇨중 카드뮴 농도 및 MT 변화에 의한 대사과정을 밝힌다면 전처치에 의해 생성된 MT와 카드뮴을 포함한 유해중금속의 독성과의 관계 및 방어기전을 이해하는데 도움이 되리라 사료된다.

## V. 요약

저농도의 카드뮴과 아연을 단기간 및 장기간 피하투여한 후 고농도의 카드뮴을 복강투여하여 투여기간, 투여농도 및 카드뮴과 아연 전처치에 따른 조직내 카드뮴, MT 농도를 측정함으로써 다음과 같은 결과를 얻었다.

전처치후 복강투여 농도의 증가에 따라 지속적으로 증가하는 경향을 보였으며, 간장의 카드뮴 농도는 장기간 실험군에 비하여 단기간 실험군에서 높은 농도를 보이고 신장의 카드뮴 농도는 단기간 실험군에 비하여 장기간 실험군에서 높은 농도를 보였다.

전처치후 복강투여 농도의 증가에 따라 간장의 아연 전처치군의 경우 장기간 실험군에 비하여 단기간 실험군에서 높은 MT 농도를 보였으며, 신장의 경우, 단기간 실험군에 비하여 장기간 실험군에서 높은 MT 농도를 보였다.

전처치에 따른 카드뮴 및 MT 농도는 장기간 실험에 의한 신장내 MT 농도를 제외하고는 아연 전처치군에 비하여 카드뮴 전처치군에서 높은 농도를 보였다.

이상의 결과에서 실험 투여기간에 따라 간장에서 신장으로의 축적변화가 일어나고 일차적으로 간장에서 생성된 MT이 카드뮴을 sequestration시키고 이 결과 형성된 CdMT 복합체가 신장으로 이동 축적되며, 아연 전처치군에 비하여 카드뮴 전처치군에서 높은 MT 농도를 보여 아연 보다는 카드뮴이 MT를 생성하는데 유효한 작인으로 사료된다.

## 참고문헌

Agarwal, A.K. (1988): Metabolic alterations in liver

- and testes of adult and new born rats following cadmium administration. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **40**, 569-575.
- Cherian, M.G. and Goyer, R.A. (1979): Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Sci.*, **23**, 1-10.
- Cherian, M.G., Goyer, R.A. and Valberg, L.S. (1978): Gastrointestinal absorption and organ distribution of oral cadmium chloride and cadmium metallothionein in mice. *J. Toxicol. Environ. Health*, **4**, 861-868.
- Chung, J., Nartey N.O. and Cherian, M.G. (1986): Metallothionein levels in liver and kidney of Canadian-A potential indicator of environmental exposure to cadmium. *Arch. Environ. Health*, **42**, 319-323.
- Clarke, I.S. and Lui, M.K. (1986): Interaction of metallothionein and carbon tetrachloride on the protective effect of zinc on hepatotoxicity. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **64**, 1104-1110.
- Dudley, R.E., Svovoda, D.J. and Klaassen, C.D. (1982): Acute exposure to cadmium causes severe liver injury in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **65**, 302-313.
- Dudley, R.E., Gammal, L.M. and Klaassen, C.D. (1985): Cadmium-induced hepatic cadmium metallothionein in nephrotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **77**, 414-426.
- Dunn, M.A., Blalock, T.L. and Cousins, R.J. (1987): Metallothionein. *Proc. Soc. Experim. Bio. Med.*, **185**, 107-119.
- Eaton, D.L. and Toal, B.F. (1982): Evaluation of the Cd/hemoglobin affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **66**, 134-142.
- Faeder, E.J., Chanet, S.G. and King, L.C. (1977): Biochemical and ultrastructural changes in livers of cadmium treated rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **39**, 473-487.
- Goering, P.L. and Klaassen, C.D. (1984a): Tolerance to cadmium-induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 308-313.
- Goering PL, Klaassen, C.D. (1984b): Zinc-induced tolerance to cadmium hepatotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 299-307.
- Goyer, R.A. (1996): Toxic effects of metals. In: Klaassen, C.D. Amdur, M.O. and Doull, J(eds.), Casarett and Doull's Toxicology. 5th Ed., Macmillan Publishing Co., New York, 699-702.
- Hammond, P.B. and Foulkes, E.C. (1994): Metal ion toxicity in man and animals. In: Siegel, H.(ed.), Metal Ions in Biological Systems. Vol.20, Marcel Dekker, New York, 177-182.
- Itokawa, Y. (1973): Bone change in experimental chronic cadmium poisoning, radiological and biochemical approaches. *Arch. Environ. Health*, **26**(5), 241-244.
- Jin, T., Nordberg, G.F. and Nordberg, M. (1987): Resistance to acute nephrotoxicity induced by cadmium-metallothionein dependence on pretreatment with cadmium chloride. *Pharmacol. Toxicol.*, **61**, 89-93.
- Kostonis, F.N. and Klaassen, C.D. (1977): Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **41**, 667-680.
- Maitani, T., Watahiki, A. and Suzuki, K.T. (1986): Induction of metallothionein after lead administration by three injection routes in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **83**, 211-217.
- Olafson, R.W. and Sim, R.G. (1979): An electrochemical approach to quantitation and characterization of metallothioneins. *Anal. Biochem.*, **100**, 343-351.
- Onosaka, S., Tanaka, K., Doi, M. and Odahara, K. A. (1978): Simplified procedure for determination of metallothionein in animal tissues. *Eisei Kagaku*, **24**, 128-133
- Onosaka, S. and Cherian, M.G. (1982): Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation method. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **63**, 270-274.
- Onosaka, S., Tanaka, K. and Cherian, M.G. (1984): Effects of cadmium and zinc on tissue levels of metallothionein. *Environ. Health. Perspect.*, **54**, 67-72.
- Probst, G.S., Bousquet, W.F. and Miya, T.S. (1977a): Correlation of hepatic metallothionein concentrations with acute cadmium toxicity in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **39**, 61-69.
- Probst, G.S., Bousquet, W.F. and Miya, T.S. (1977b): Kinetics of cadmium-induced hepatic and renal metallothionein synthesis in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **39**, 51-60
- Scheuhammer, A.M. and Cherian, M.G. (1986): Quantification of metallothionein by a silver saturation method. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **82**, 417-425.
- Sendelbach, L.E. and Klaassen, C.D. (1988): Kidney synthesizes less metallothionein than liver in response to cadmium chloride and cadmium-metallothionein. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **92**, 95-102.
- Stacey, N.H. and Klaassen, C.D. (1981): Comparison of the effects of metals on cellular injury and

lipid peroxidation in isolated rat hepatocyte. *J. Toxicol. Environ. Health*, **7**, 139-147.

Squibb, K.S. and Cousins, R.J. (1974): Control of cadmium binding protein synthesis in rat liver.

*Environ. Physiol. Biochem.*, **4**, 220-223.

Webb, M. and Etienne, A.T. (1976): Studies on the toxicity and metabolism of cadmium thionein. *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 25-32.