

## 카드뮴 투여수준이 흰쥐의 임상적인 중독증과 정자능력 및 장기조직에 미치는 영향

한찬규 · 노정해 · 이남형 · 채찬희<sup>1</sup> · 김광식<sup>2</sup> · 이복희<sup>3</sup>

한국식품개발연구원

### Effect of Dietary Cadmium Level on Clinical Toxicity, Sperm Capacity and Histopathological Changes in Rats

Han, C. K., J. H. Rho, N. H. Lee, C. H. Chae<sup>1</sup>, K. S. Kim<sup>2</sup> and B. H. Lee<sup>3</sup>

Korea Food Research Institute

#### SUMMARY

The present study was conducted to find the effects of different cadmium(Cd) levels in diets on clinical toxicity, sperm capacity and histopathological changes in rats. Thirty male rats of Sprague-Dawley weighing  $125.3 \pm 15.2$ g were randomly blocked into five groups according to body weights. Five levels of Cd in AIN-76 purified diet(0, 25, 50, 100 and 250 ppm) had been fed for 8 weeks. Cadmium was supplemented with a form of CdCl<sub>2</sub>.

1. After 8 weeks of Cd intake had resulted in apparent cadmium intoxication; reduced growth rate, enlarged kidney and testis, decreased hematocrit value and hemoglobin content in response to supplemented Cd levels in the diets.
  2. Cadmium accumulation in liver and kidney showed a tendency to increase in cadmium-exposed groups. The levels of metallothionein were also significantly elevated in the tissues of liver in response to the levels of Cd supplemented ( $P < 0.05$ ).
  3. Although sperm motility was not significantly different among treatments, rats fed Cd tended to have reduced sperm motility but sperm concentration of Cd supplemented groups were significantly lower than that of control ( $P < 0.05$ ).
  4. Based on the findings from gross lesion, rats fed 250ppm of Cd were externally emaciated, had exposed penis and observed atrophies of kidney and testis. Histopathological observation seemed that the liver of groups feeding Cd supplemented diets showed cellular degeneration and accumulation of eosinophilic materials in the capillaries. In kidney, rats fed Cd diets had shown tubular epithelium degeneration and lesions of basophilic materials, while testes were weakened in numbers of spermatid and sporadically enlarged of giant cells.
- (Key words : Cadmium toxicity, Histopathologic lesion, Metallothionein, Sperm capacity, Rat)

<sup>1</sup>서울대학교 수의학과 (Dept. of Veterinary Medicine, Seoul National University)

<sup>2</sup>중앙대학교 동물자원과학과 (Dept. of Animal Science and Technology, Chung-Ang University)

<sup>3</sup>중앙대학교 식품영양학과 (Dept. of Food and Nutrition, Chung-Ang University)

## I. 서 론

환경오염성 중금속 가운데, Itai-Itai병의 원인물질 (Clausen과 Rastolgi, 1977 ; Shaikh과 Lucis, 1972)로 밝혀진 카드뮴(Cd)은 변질되지 않는 성질을 가지고 있어 합금, 도금, 축전지 및 도료 등의 공업에서 널리 사용되고 있다. 오염된 식품이나 대기를 통해 체내에 침입되는 Cd는 총축적량의 약 50~80%가 간과 신장에 분포하고 그 독성이 강하여 미량이라도 체내에 축적될 경우 여러 가지 猛毒性的 臨床 症狀이 나타난다(Clausen과 Rastolgi, 1977 ; Shaikh와 Lucis, 1972 ; 정 등, 1988 ; 이와 김, 1988). 카드뮴의 중독에 의한 증상은 체중 감소, 빈혈, 간과 신장 등의 조직형태학적 변화, 고혈압, 단백뇨, 골연화증, 중추신경계 이상과 내분비 장애 등이 있다(Page와 Chang, 1986). FAO/WHO 전문가위원회에서는 성인의 경우 카드뮴의 섭취허용범위를 1인당 57~71 $\mu\text{g}$ /day로 설정하였으며(FAO, 1972), 우리나라에서의 카드뮴의 전국적인 식이섭취량에 대한 보고는 아직 없으나 1980~1990년 사이 지역별 카드뮴 섭취 실태 조사에 따르면 1인당 평균 55~84 $\mu\text{g}$ /day로 보고되고 있다(김 등, 1989; 송과 이, 1986). 카드뮴은 인체내에 흡수된 후 metallothionein 단백질과 결합되어 주로 간과 신장에 축적되고 그의 갑상선, 췌장, 부신 등에도 소량 축적되어 체내 호르몬 대사에 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 카드뮴 독성과 중금속 이온운반 단백질인 metallothionein(MT)의 관계에 대한 보고(Revis와 Osborne, 1984 ; Cherian과 Nordberg, 1983)에서는 Cd에 장기간 노출될 경우 주로 간과 신장조직에서 MT합성이 증가되어 free Cd와 결합하게 되는데 이 MT가 조직내에서 Cd와 결합하여 무독화(non-toxic)시킬 뿐 아니라 신장을 통한 Cd배설을 돕는 등 전반적인 체내 Cd 대사 및 중독에 대해 보호적 효과를 나타내는 것으로 알려졌다. 카드뮴은 금속을 필요로 하는 효소의 활성을 저해하거나 조직의 형태를 변화시킴으로써 독성을 나타내는데 효소의 활성을 저해하여 나타나는 증상으로는 hyperglycemia, dyslipidemia, hypoproteinemia, 성장장애 등이 있고, 조직의 형태를 변화시킴으로써 나타나는 증상으로는 nephropathy, hepatopathy, cardiovascular disease,

osteopathy, gonadal lesion 등이 있다. 따라서 카드뮴은 질병의罹患率과 死亡率을 증가시켜서 수명을 감소시키는 요인으로 작용한다(Friberg, 1950).

본 연구에서는 일련의 카드뮴 중독 및 해독 실험을 위한 기초자료를 얻기 위하여 식이중 카드뮴 수준이 흰쥐의 임상적인 중독과 정자능력 및 장기조직에 미치는 영향을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물과 실험식이

공시동물은 약 4주령된 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐로서 구입 후 10일 동안 사육실 환경에 적응시켰다. 실험 동물은 완전임의배치법으로 체중이 균일하게 처리구당 6마리씩 배치하였고 8주간 본 실험을 실시하였다. 시험 처리구는 다섯 종류로서 Cd 농도가 각각 0, 25, 50, 100 및 250ppm이 되도록 하였다. 시험 개시일의 평균체중은 125.3 $\pm$ 15.2g이었고, 개시체중은 분산분석하여 처리구간에 차이 유무를 확인하였다.

실험식이의 조성과 일반성분은 Table 1과 2와 같다. 실험식이의 단백질 급원은 카제인을 이용하였고 탄수화물 급원은 옥수수 전분과 설탕을 사용하였으며, 지방급원은 옥수수 기름을 사용하였다. 실험식이는 AIN-76 purified diet (AIN, 1977) 배합표를 기준으로 하였고, 카드뮴은 CdCl<sub>2</sub>를 이용하여 Cd농도가 각각 0, 25, 50, 100 및 250ppm이 되도록 첨가하였다. 실험식이의 일반조성분은 A.O.A.C(1980) 방법으로 분석하였다.

한편 시험기간 중 체중은 1주일 간격으로 측정하였고, 사료 섭취량 및 음수량은 2~3일 간격으로 조사하였다.

### 2. 채혈 및 분석시료 준비

혈액의 채취는 시험 종료전일에 쥐를 12시간 절식시킨 후 에테르로 마취시켜 복부 대동맥으로부터 헤파린이 처리된 주사기(22Gx 1 $\frac{1}{4}$ )로 약 10ml 정도 채혈한 다음 헤모글로빈과 헤마토크릿치 측정에 사용하였다. 장기의 채취는 간장과 신장을 적출하여 0.9% 생리식염수로 혈액을 씻어내고 장기의 무게를 측정 후 냉동보관하였다.

**Table 1. Composition of experimental diets**

Ingredient	%
Casein(feed grade CP 85%)	20.0
Corn starch	55.0
Sucrose	10.0
Cellulose (fiber)	5.0
Corn oil (commercial)	5.0
DL-methionine	0.3
AIN-mineral mixture <sup>1)</sup>	3.5
AIN-vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.0
Choline bitartrate	0.2

- 1) Contained per kg mixture; CaHPO<sub>4</sub> 500g, NaCl 74g, K<sub>3</sub>C<sub>6</sub>O<sub>7</sub> · H<sub>2</sub>O 220g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52g, MgO 24g, 48% Mn 3.5g, 17% Fe 6.0g, 70% Zn 1.6g, 53% Cu 0.3g, KIO<sub>3</sub> 0.01g, CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O 0.55g, and sucrose.
- 2) Contained per kg mixture; Thiamin · HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxine · HCl 700mg, Nicotinic acid 3g, Vit. A 400,000 IU(Retiny acetate), Vit. E(dL- $\alpha$ -Tocopheryl acetate) 5,000 IU, Vit. D<sub>3</sub> 2.5mg, Vit. K 5.0mg, and sucrose.

### 3. Hemoglobin과 hematocrit 측정

헤모글로빈 함량은 Cyanmethemoglobin법(백 등, 1984)으로 측정하였다. 즉, cyanide solution 5ml에 0.02ml의 혈액을 가하고 잘 혼합한 다음 분광광도계(Jasco, Uvidec-610)를 사용하여 540 nm에서 비색 정량하였으며, 헤마토크릿치는 혈액을 채취한 후 heparin이 처리된 capillary tube에서 모세관의 원리를 이용하여 2/3 정도 채운 다음 원심분리(11,000rpm, 5분) 시킨 후 packed red cell volume의 백분율을

측정하였다.

### 4. 카드뮴 함량

간장, 신장 중의 카드뮴 함량은 시료를 회화시킨 후 50% HCl 10ml를 가하여 hot plate에서 거의 마를 때까지 증발건조시킨다. 이 과정을 반복한 후 냉각시킨다. 0.1N HCl로 적당 부피까지 희석하여 준다. 희석된 시료는 여과지를 이용하여 여과하고 원자흡광계(Atomic Absorption Spectrometer, Perkin-Elmer Co.)를 이용하여 228.8nm에서 측정하였다.

### 5. 조직중의 metallothionein(MT) 측정

조직중의 metallothionein(MT) 측정은 Eaton과 Toal(1982)의 방법을 이용하였다. 간 조직 일정량을 취해 4배(v/w)의 10mM Tri-HCl로 homogenize한다. 10,000×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 끓는 수조에서 2분간 가열한다. 10,000×g에서 2분간 원심분리한 후 상층액을 얻어낸다. 상층액을 적당 비율(10~50배)로 희석하여 이중 400 $\mu$ l를 1.5ml microcentrifuge tube에 취한다. CdCl<sub>2</sub>-Tris buffer 용액 400 $\mu$ l를 섞어 이 때의 Cd농도가 2.0 $\mu$ l/ml가 되게 한 다음 10분간 방치하여 MT가 Cd에 saturate 되도록 한다. MT와 결합하지 않은 Cd를 제거하기 위해 Onosaka와 Cherian(1982)의 Cd/Hb affinity assay방법을 따랐다. 2% hemoglobin용액 200 $\mu$ l를 넣고 끓는 수조에서 2분간 가열한 후 냉각시키고 원심분리하여 침전물을 제거한다. 이 과정을 2회 더 반복한 후 상층액에서의 Cd양을 AAS로 측정한다. 1mole의 MT(MW 6,050으로 가정)에 7mole의 Cd가 붙는다는 가정 하에서 MT의 양을 산출하였다.

**Table 2. Proximate analysis and cadmium content of experimental diets**

Proximate analysis (%)	Treatment (Cd, ppm)				
	A (0)	B (25)	C (50)	D (100)	E (250)
Moisture	4.43	4.64	4.60	4.61	4.56
Crude protein	19.22	18.80	18.67	18.26	18.79
E. E.	2.56	2.16	2.32	2.08	1.67
Crude ash	2.54	2.54	2.64	2.72	2.70
Crude fiber	3.79	3.49	3.58	3.38	3.30
Energy (g/cal)	3,684	3,795	3,957	3,928	3,961
Cd (ppm)	0.00	23.83	46.38	94.47	240.97

었다.

### 6. 정자능도 및 정자 활력검사

정자능도는 原精液을 3% NaCl 용액과 혼합 후 (400~500배 희석) spectrophotometer로 측정하였다. 정자 활력검사는 Missouri 대학 Mayer 등(1947)의 生死染色法(dead-alive staining)을 이용하였고 정자 두부의 배경 염색으로 Eosin 염색액(Fast Green F.C.F. stain)을 제조하여 위상차 현미경(400배율)으로 활력이 90% 이상인 정자의 운동성을 관찰하였다.

### 7. 병리 조직학적 검사

장기를 절제한 다음 즉시 조직을 2.5% glutaraldehyde-1%, paraform-aldehyde 혼합고정액(phosphate buffer, pH 7.3)에 1일간 전고정한 후, 4% sucrose(0.1M phosphate buffer)로 씻어 1% osmium tetroxide (phosphate buffer, pH 7.3)에서 2시간 동안 후고정하고 다시 4% sucrose(0.1M phosphate buffer)로 2회 세척하였다. 세척된 조직은 ethyl alcohol series(60%~100%) 및 acetone(100% 2회)의 탈수과정을 거친 다음 epon 812 수지에 포매하고 40℃ 오븐에서 1일간 그리고 60℃오븐에서 2일간 중합시켰다. 수지에 포매된 조직은 ultramicrotome(Sorvall MT-5000)으로 1 $\mu$ m 두께의 절편을 만들어서 0.5% toluidine blue로 염색한 다음 광학현미경(LM)으로 각 조직을 확인하였고, 확인된 조직은 다시 50nm 두께의 초박절편으로 만든 다음 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과 전자현미경(Hitachi H-600)으로 관찰하고 사진 촬영하

### 8. 통계처리

측정된 자료는 SAS program을 이용하여 Mean  $\pm$  SD를 구하고 처리구의 평균치간의 유의성을 검정하였다(Duncan, 1957).

## III. 결과 및 고찰

### 1. 성장률과 식이효율

실험동물의 체중증가와 식이효율은 Table 3과 같다. 실험개시시 체중은 처리구간에 차이가 없었다. 8주간 Cd 첨가식을 급여한 결과 최종 체중은 각 처리구간에 유의적인 차이가 있었다( $P < 0.05$ ). 따라서 일당 증체량은 대조구에 비해 Cd 첨가수준이 높은 처리구일수록 유의하게 낮았다. 권과 김(1992)은 카드뮴의 섭취가 체중증가에 영향을 주는 요인이라고 하였다. 식이섭취량과 음수량 역시 Cd 투여수준이 증가함에 따라 유의적으로 낮아지는 것으로 나타났다. 식이효율(feed efficiency ratio)은 각 처리구간에 유의적인 차이를 보였다. 즉 카드뮴 투여수준이 높을수록 식이효율은 유의적으로 낮아졌다( $P < 0.05$ ). 식이효율에서 250ppm Cd 투여군은 0.064로서 대조군의 0.254에 비해 카드뮴에 의한 식이효율의 저하가 뚜렷한 것으로 나타났다. 카드뮴 투여에 의하여 성장이 둔화되는 경향을 보인 실험결과와는 다른 보고에서 볼 수 있다(Suzuki, 1984; 권과 김, 1992; 이와 김, 1988). 이러한 결과들은 모두 Cd 공급이 직접적으로 식이 섭취량 감소에 영향을 미치거나 카드뮴의 공급으로 체내

Table 3. Effects of cadmium supplementation on body weight, feed, water intakes and feed efficiency ratio

	Treatment				
	A	B	C	D	E
Initial weight (g)	126.6 $\pm$ 2.5	125.8 $\pm$ 14.7	127.7 $\pm$ 4.8	125.2 $\pm$ 14.1	123.5 $\pm$ 6.9
Final weight (g)	382.7 $\pm$ 20.4 <sup>a</sup>	340.5 $\pm$ 21.8 <sup>b</sup>	297.0 $\pm$ 32.0 <sup>c</sup>	243.5 $\pm$ 43.9 <sup>d</sup>	155.3 $\pm$ 41.6 <sup>e</sup>
Gain (g/day)	4.56 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	3.84 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	2.99 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>	2.12 $\pm$ 0.59 <sup>c</sup>	0.37 $\pm$ 0.39 <sup>d</sup>
Feed (g/day)	18.10 $\pm$ 2.82 <sup>a</sup>	15.99 $\pm$ 2.79 <sup>b</sup>	14.42 $\pm$ 2.03 <sup>b</sup>	12.08 $\pm$ 1.38 <sup>c</sup>	7.15 $\pm$ 0.75 <sup>d</sup>
Water (ml/day)	34.7 $\pm$ 2.70 <sup>a</sup>	28.8 $\pm$ 3.42 <sup>b</sup>	25.5 $\pm$ 2.09 <sup>c</sup>	21.0 $\pm$ 2.95 <sup>d</sup>	11.9 $\pm$ 2.67 <sup>e</sup>
F.E.R.(gain/feed)	0.254 $\pm$ 0.043 <sup>a</sup>	0.242 $\pm$ 0.054 <sup>a</sup>	0.216 $\pm$ 0.031 <sup>ab</sup>	0.173 $\pm$ 0.069 <sup>b</sup>	0.064 $\pm$ 0.113 <sup>c</sup>

Mean  $\pm$  SD with different superscript in the same line differ significantly ( $P < 0.05$ ).

**Table 4. Effects of cadmium supplementation on organ weight**

Organ weight <sup>1</sup>	Treatment				
	A	B	C	D	E
Liver	3.63±0.26	3.82±0.13	3.61±0.29	3.71±0.22	3.77±0.55
Kidney	0.70±0.07 <sup>b</sup>	0.68±0.06 <sup>b</sup>	0.66±0.05 <sup>b</sup>	0.76±0.06 <sup>b</sup>	0.97±0.20 <sup>a</sup>
Testis	0.98±0.12 <sup>bc</sup>	0.82±0.23 <sup>c</sup>	1.02±0.21 <sup>bc</sup>	1.46±0.33 <sup>a</sup>	1.29±0.44 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup> g per 100g body weight

Mean±SD with different superscript in the same line differ significantly(P<0.05).

영양소의 흡수 및 대사에 변화가 생겨 식이효율이 감소됨으로서 체중증가가 감소된데 기인된 것으로 생각 된다.

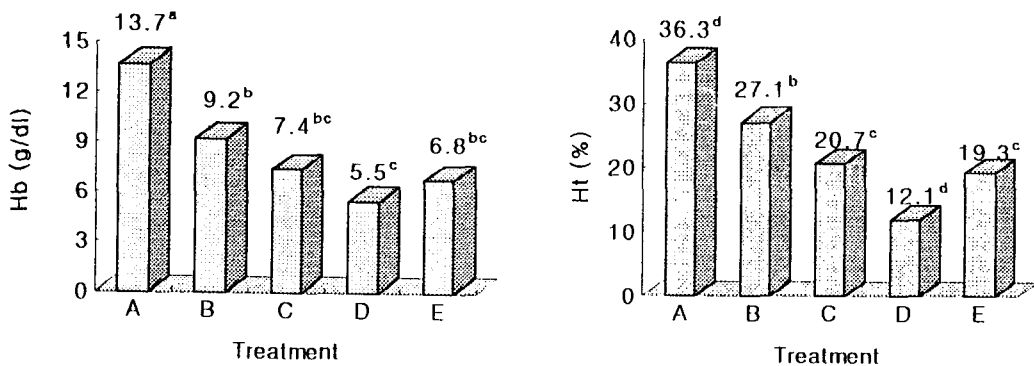
### 2. 장기의 무게

장기의 무게를 보면 Table 4와 같다. 본 실험에서 간의 무게는 카드뮴의 투여에 의해 유의한 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 다만 신장과 정소의 무게는 카드뮴 투여수준이 높은 D와 E 처리군(100, 250 ppm)에서 유의하게 비대한 것으로 나타났다(P<0.05). 한편 동물체내에 축적된 카드뮴은 50~80%가 간과 신장조직에 분포되어 있으며, 카드뮴중독에 가장 큰 영향을 받는 장기인 간과 신장의 무게는 카드뮴 투여후 감소되지만 신장의 무게를 체중으로 나눈 값은 카드뮴 중독에 의한 장기조직의 괴사로 인해 비대해진다고 보고되었다(Mahaffey, 1981).

### 3. 헤모글로빈 함량 및 헤마토크릿치

헤모글로빈(Hb) 함량은 각 처리군간에 유의한 차

이가 나타났다(Fig. 1). 즉 카드뮴 투여수준이 증가할수록 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 헤마토크릿치(Ht)도 각 처리군간에 유의한 차이가 나타났다(Fig. 1). 카드뮴이 증가할수록 헤마토크릿치는 낮아져서 Cd 0ppm(A) 36.2%, 25ppm(B) 27.1%, 50ppm(C) 20.7%, 100ppm(D) 19.2%, 250ppm(E) 12.1%이었는데 식이중 카드뮴 첨가수준이 50ppm 이상 증가할 경우 유의하게 감소하였다(P<0.05). 카드뮴 투여로 인한 Hb과 Ht의 감소는 이와 김(1988), 전과 이(1993)의 연구에서와 같은 경향을 보이는데 이는 장기내에서 철분의 흡수가 Cd에 의해 저해받는 것으로 보고되었다. 카드뮴 공급시 카드뮴과 철분이 서로 경쟁적으로 작용하여 장에서의 철분흡수를 낮추며 혈장의 transferrin 수준과 TIBC(total iron binding capacity)가 감소되고 체내 철분 보유량도 감소되었다는 보고(Valverg 등, 1976)와 연관지어 생각해 볼 수 있다. 또한 카드뮴 중독으로 인한 전반적인 영양불량 상태가 간접적인 철분결핍을 유발할 수 있고(Hamilton과 Valverg, 1974) 이러한 철분대사장애



**Fig. 1. Hemoglobin content and hematocrit value of Cd-exposed rats.**

Mean±SD with different superscript in the bar differ significantly(P<0.05).

가 Hb 함량과 Ht치 감소에 영향을 미친 것으로 생각된다.

#### 4. 조직 중의 카드뮴 함량

간과 신장조직 중의 카드뮴 함량은 Fig. 2와 같다. 전체적으로 8주간 Cd를 투여한 결과 카드뮴 투여수준에 따라 조직 중의 Cd 축적이 유의하게 증가하였다 ( $P < 0.05$ ). 식이중의 카드뮴이 간과 신장조직으로의 축적정도는 간조직이 평균  $34.1 \pm 6.0\%$ , 신장조직은 평균  $54.3 \pm 18.2\%$ 로서 신장보다 간에서 Cd 축적이 낮은 것을 알 수 있다.

카드뮴 투여수준에 따라서는 저수준의 Cd 투여군이 고수준의 Cd 투여군보다 조직으로 축적 정도가 대체로 높았다. 카드뮴의 체내 흡수율, 이용율 및 체내에서의 분포는 섭취한 카드뮴염의 형태와 섭취경로 및 섭취량에 의하여 영향을 받는다(이, 1994). 한편 카드뮴을 cadmium sulfate( $CdSO_4$ )로서 탈이온수에 25, 50ppm 수준으로 음용수 형태로 투여한 실험에서(노 등, 1997) 간과 신장조직중의 카드뮴 축적량이 각각  $0.37 \sim 1.96ppm$ ,  $0.17 \sim 1.03ppm$ 으로 매우 낮았다. 카드뮴을 음용수로 섭취시킨 김 등(1995)은 100ppm 수준으로 9주간 투여했을 때 노 등(1997)의 축적량보다 높은 결과를 나타내고 있다.

최근의 연구에서는 분리정제된 Cd-MT을 섭취할 경우 같은 양의 무기염 형태의 카드뮴에 비해 독성이 더 강한 것으로 보고되었다(Groten 등, 1990). 본 실험에서는 카드뮴( $CdCl_2$ )을 식이에 혼합하여 섭취시켰

기 때문에 체내 흡수율과 체내 분포가 비교적 높았고 생각된다.

#### 5. 간 조직중 metallothionein(MT) 함량

간에서의 MT함량은 원자흡광분광기로 카드뮴 농도를 측정하여 1mol MT(MW 6,050으로 가정)에 7mol의 카드뮴이 결합한다는 가정하에서 MT농도를 구하였다. 그 결과는 Fig. 3과 같다.

본 실험에서 나타난 측정결과는 대조군(A)에서  $23.3\mu g/g$  liver이었고 카드뮴 25와 50ppm 투여군(B)와 (C)에서 각각  $51.6, 57.3\mu g/g$  liver로 차이가 없었으며 100ppm과 250ppm 투여군인 (D)와 (E)는 각각  $88.5, 182.0\mu g/g$  liver로서 카드뮴 투여수준에 따라 MT함성에 유의한 영향을 미친 것으로 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 이는 MT가 카드뮴에 의한 중독을 완화시키기 위한 길항작용으로 나타난 것으로 볼 수 있다. 중금속에 대한 MT의 해독작용의 기작은 동물실험 결과(Nordberg 등, 1975; Squibb과 Cousin, 1974) 체내로 중금속이 흡수되면 주로 간장과 신장에서 MT 합성이 크게 증가되고 이 MT가 조직내에서 독성이 강한 유리중금속과 결합하여 무독화 상태로 전환시킬 뿐 아니라 간장조직에서 신장조직으로 운반 및 뇨를 통한 배설을 돕는 등으로 유독성 중금속 이온의 체내 대사에 관여하는 것으로 알려져 있다(Garvey, 1984). 또한 장기간 카드뮴에 노출될 경우 간장 및 신장조직에서 카드뮴과 MT가 결합된 형태인 Cd.MT 농도가 증가되고 Cd.MT량이 너무 증가되면 또 다시 독성이 강

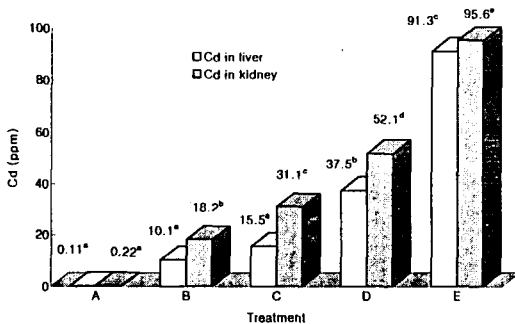


Fig. 2. Cadmium contents in liver and kidney of Cd exposed-rats. Mean  $\pm$  SD with different superscript in the bar differ significantly ( $P < 0.05$ ).

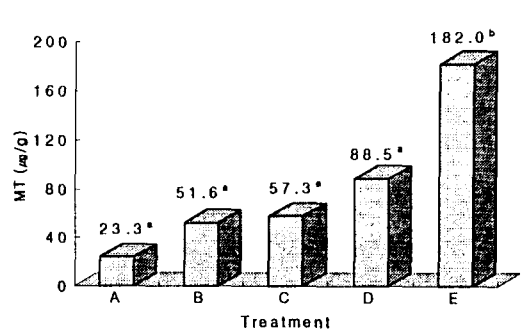


Fig. 3. Metallothionein content in liver of Cd exposed-rats. Mean  $\pm$  SD with different superscript in the bar differ significantly ( $P < 0.05$ ).

한 유리 카드뮴 이온이 방출되어 세포내 여러 효소의 작용을 방해하고 증가된 Cd.MT 자체가 다른 고분자량의 단백질과 결합하여 세포막을 손상시키는 등의 카드뮴 중독현상을 유발시키는 것으로 밝혀졌다(Coleman과 Vallee, 1961; Stowe와 Wilson, 1972).

### 6. 정자 활력과 정자 농도

식이 카드뮴을 8주간 투여한 후 정소를 채취하여 정자활력과 농도를 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 정자의 활력은 유의적인 차이는 없었지만 정자농도는 카드뮴 투여에 의한 영향이 현저하게 나타났다. 즉 카드뮴 첨가수준이 증가함에 따라 정자활력과 농도가 뚜렷한 감소 경향을 보였다. 정자활력은 정자의 생존성을 나타내는 하나의 indicator로서(Noran 등, 1998) 이용되고 있는데 본 실험에서 대조군의 활력은 평균 90% 이었고 카드뮴 첨가군은 76.7~83.3%로서 비록 통계적인 차이는 없었지만 Cd 투여에 의해 정자활력이 감소된 것을 알 수 있었다. 한편 정자농도 역시 Cd 첨가수준이 높아질수록 유의적으로 감소하였는데 대조군(A) 1.9억 마리가 100ppm과 250ppm 투여군(D, E)의 경우 각각 7,000만, 4,000만 마리로 감소하였다.

정자는 내적환경이 alkaline condition일 경우 생존성이 최대한 확보되는 것으로 알려져 있고(Tampion과 Gibbons, 1963), 정자의 최대활력 유지기간의 연장과 성공적인 수정을 위한 침체반응의 개시에는 K(Shannon과 Curson, 1987)과 Ca(Memon과 Ott, 1981) 이온이 유효한 것으로 알려져 있기 때문에 본 실험에서 Cd에 비교적 장기간 노출됨으로써 흰쥐의

성선조직의 형태 변화와 함께 금속이온의 활성 저해에 의하여 정자활력 및 농도가 감소된 것으로 생각된다.

### 7. 병리조직학적 검사

카드뮴을 8주간 흰쥐에게 투여한 결과 카드뮴 투여 농도와 육안병변간에는 상관관계가 관찰되었다(Table 5). 즉 카드뮴 농도가 증가될수록(100ppm, 250ppm) 흰쥐의 전반적인 상태는 수척(emaciation)해지고 신장과 간장의 위축(atrophy)이 관찰되었다. 간장의 경우 카드뮴무처리 대조군에서는 미약한 극소염증세포의 침윤을 제외하고는 특이한 병변을 관찰할 수 없었다(Fig. 5-1, Table 6). 카드뮴 투여군에서는 정도의 차이는 있지만 대조군과 비교하여 보면 카드뮴에 의한 병리학적 병변이 관찰되고 있다. 카드뮴 투여

Table 5. Gross findings of rats administered with Cd for 8 weeks

Treatment	Cd (ppm)	Rat (n)	Findings(No.)
A	0	6	NGL <sup>a</sup> (6)
B	25	6	NGL <sup>a</sup> (6)
C	50	6	NGL <sup>a</sup> (6)
D	100	6	NGL <sup>a</sup> (6)
E	250	6	Emaciation(6)
			Exposed penis(6)
			Atrophy of kidney(6)
			Atrophy of testes(6)

a : No gross findings

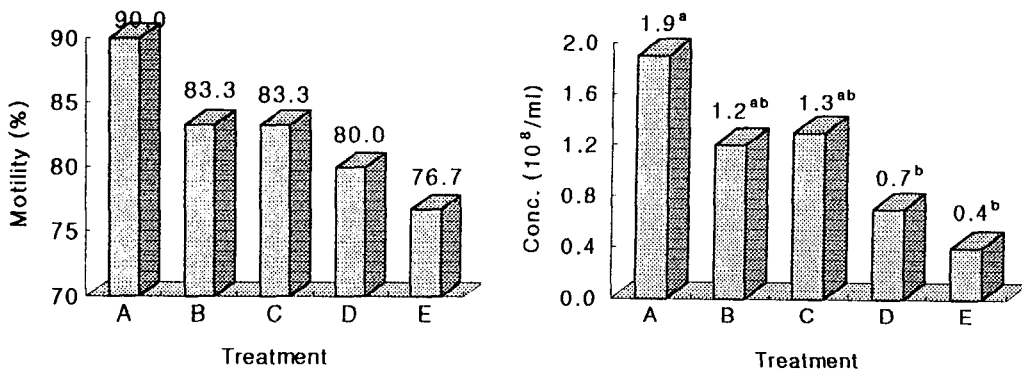
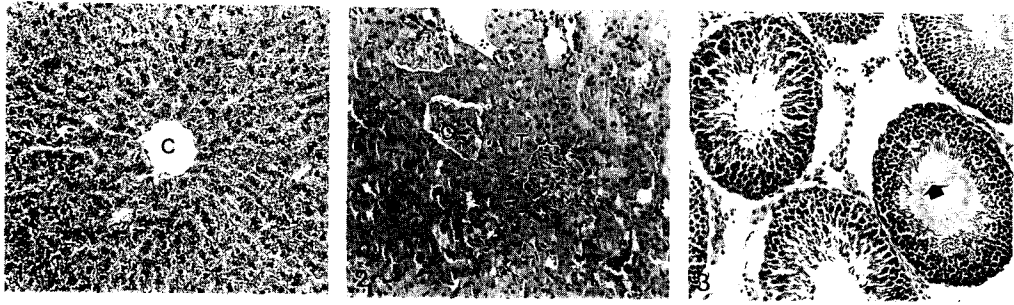


Fig. 4. Sperm motility and concentration of Cd-exposed rats.

Mean±SD with different superscript in the bar differ significantly(P<0.05).

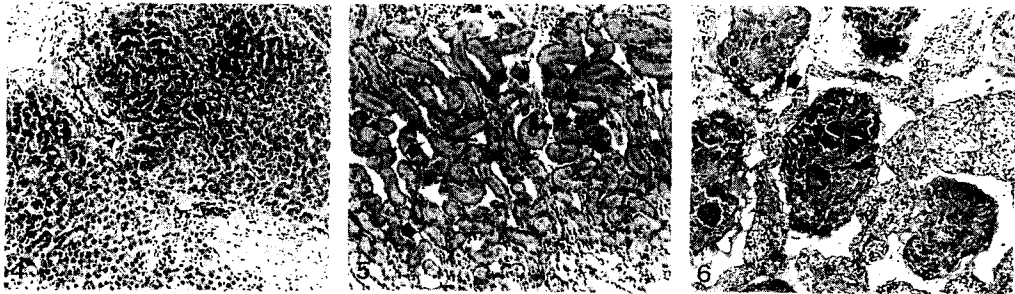


**Fig. 5. Rats fed basal diet without administration of cadmium for 8 weeks.**

**5-1. The hepatocytes demonstrate in a row around central vein (C). H&E stain ( $\times 200$ )**

**5-2. Glomeruli (G) and proximal convoluted tubule (T) are observed. H&E stain ( $\times 200$ )**

**5-3. The semen (testicular fluid) formation of convoluted tubule (arrow) is markedly observed. H&E stain ( $\times 200$ )**



**Fig. 6. Rats fed basal diet with administration of 250 ppm Cd for 8 weeks.**

**6-4. The damaged hepatocytes, irregular nucleus and amorphous materials in sinusoid (arrow) are observed. Also, the inflammatory infiltration (arrow heads) is observed in portal area. H & E stain ( $\times 200$ )**

**6-5. The round hyaline substances (arrows) are accumulated in inner cavity of proximal convoluted tubules. H & E stain ( $\times 200$ )**

**6-6. The degeneration of seminiferous tubule and mega-karyocyte (arrow heads) fused by degenerated spermatids are observed. H & E stain ( $\times 200$ )**

**Fig. 7. Electron micrograph, uranyl acetate & lead citrate stain ( $\times 5,000$ ).**

**7-7. The hepatocytes of control rat demonstrate numerous mitochondria and abundant rough-surfaced endoplasmic reticulum (RER)**

**7-8. Various vacuoles (V) in cytoplasm and mitochondria (M) of liver cell are observed in rat fed Cd 250ppm for 8 weeks**

**7-9. Epithelial cell of proximal convoluted tubule of rat fed Cd 250ppm for 8 weeks. Brush border is not observed, but various vacuoles (V) are indicated in cytoplasm**



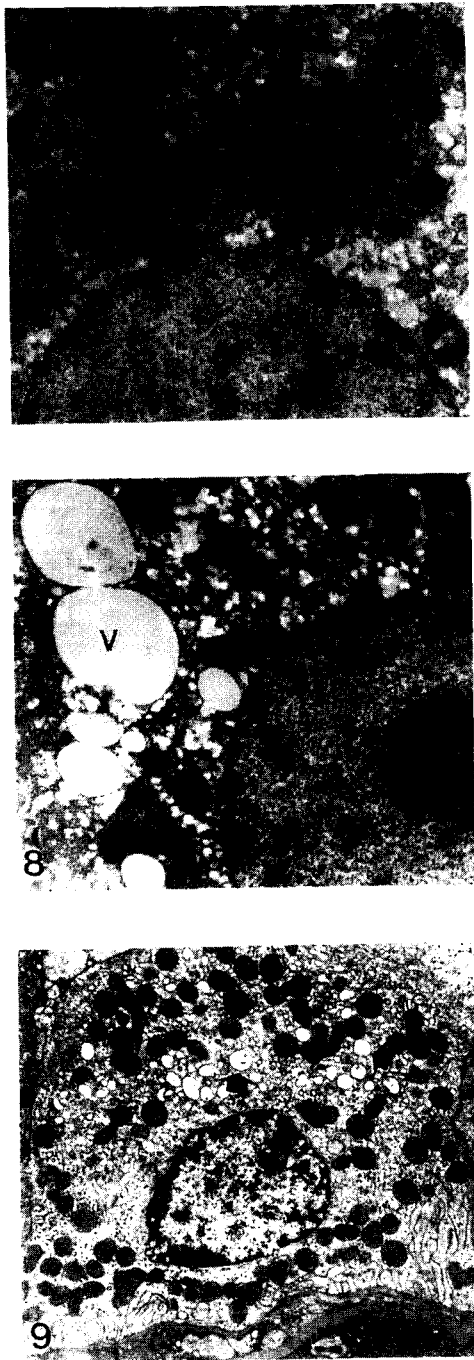


Table 6. Histopathological lesions of rats administered with cadmium for 8 weeks

Organ (Histopathologic)	Treatment (No. of rat)						Degree of lesions*														
	A (6)		B (6)		C (6)		D (6)		E (6)		F (6)										
Liver : Cellular degeneration	6	0	0	2	0	3	1	0	0	3	0	2	0	4	0	0	0	0	5	1	0
Focal cellular infiltration	5	1	0	2	2	0	2	0	5	0	0	1	2	2	0	0	3	3	0	0	0
Eosinophilic material in sinusoid	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	5	0	0	0	1
Kupffer cell hyperplasia	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	5	0	1	0	0
Kidney : Proximal tubular degeneration	6	0	0	5	0	1	0	5	0	1	0	0	3	0	2	1	0	0	3	3	0
Proximal tubular regeneration	6	0	0	1	2	3	0	5	0	1	0	0	3	0	3	0	4	0	2	0	0
Proximal tubular dilation	5	1	0	5	0	1	0	2	0	3	1	0	4	0	2	0	4	0	2	0	0
Focal cellular infiltration	6	0	0	5	0	1	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	6	0	0	0	0
Fibrosis	6	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	5	0	0	0	1
Testis : Spermatids degeneration	6	0	0	3	0	3	0	2	0	3	1	0	1	0	2	3	0	4	0	0	1
Decreased spermatogenesis	6	0	0	6	0	0	0	4	0	1	1	0	5	0	1	0	0	1	0	2	1
Giant cell	6	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	2	0	3	1	0

\* - : no lesion, ± : slight lesion, + : mild lesion, ++ : moderate lesion, +++ : severe lesion

군의 간세포에서는 변성이 관찰되며, sinusoid에서는 호산성 물질이 축적되어 있으며(Fig. 6-4, Table 6) 때때로 간문맥에 염증세포의 축적도 관찰된다.

신장의 경우 Cd 무처리 대조군에서는 카드뮴에 의해 유발되는 병변은 관찰할 수가 없었다(Fig. 5-2). 카드뮴 투여군에서는 Cd 투여농도에 의해서 근위 곡세뇨관 상피세포의 변성 및 호염성 병변이 관찰되고 있으며 근위곡세뇨관 내강에서 초자양물질이 축적되었다(Fig. 6-5, Table 6).

고환의 경우, Cd 무처리 대조군에서는 카드뮴에 의해 유발되는 병변은 관찰할 수가 없었다(Fig. 5-3). 카드뮴 투여군에서는 Cd 투여농도에 의해서 세포변성, 정액수의 감소 및 거핵세포의 출현이 관찰되었다(Fig. 6-6, Table 6).

한편 전자현미경적 관찰(EM)에서는 카드뮴을 투여하지 않은 대조군의 간장은 정상적인 mitochondria, ribosome 및 rough endoplasmic reticulum등이 관찰되었다(Fig. 7-7). 8주간 카드뮴 투여군의 간장에서는 mitochondria에서 공포가 관찰되었으며, 세포질의 세망 내피계에서 유래된 것으로 추정되는 많은 수의 비교적 큰 공포(vacuole)가 관찰되었다(Fig. 7-8). 카드뮴을 투여하지 않은 대조군의 신장의 근위 곡세뇨관 상피세포에서는 정상적인 미세구조가 관찰된 반면, 카드뮴 투여군의 세포질에서는 공포(vacuole)가 관찰되었다(Fig. 7-9).

이상에서 볼 때 간장 간세포의 변성은 카드뮴에 의해 세포막의 투과성 증가 등에 의해 유발되는 병변으로 추정되며 간세포와 간세포 사이의 모세혈관인 sinusoid에서의 호산성물질의 저류는 간세포의 변성에 의해 간세포로부터 유출된 단백질이 축적된 것으로 추정된다. 또한 카드뮴의 직접작용에 의해서 sinusoid에 위치해 있는 Kupffer cell이 활성화된 것으로 추정된다. 상피세포의 변성과 초자양 물질의 내강 축적은 체내에 흡수된 카드뮴에 의한 직접적 손상을 의미하며, 호염성 병변은 카드뮴에 의해 직접적으로 손상된 상피세포의 복구과정을 의미하는 것으로 생각된다. 카드뮴이 고환내에서 생성되고 있는 정소액에 직접적인 영향을 미치기 때문에 손상된 정소액의 응집에 의하여 거핵 정자 세포를 생성하는 것으로 추정된다.

## IV. 적 요

카드뮴(Cd)의 투여가 흰쥐의 임상적인 중독 정도와 정자능력 및 장기조직에 미치는 영향을 조사하였다. 카드뮴의 임상적인 중독증 유발을 위한 시험사료는 흰쥐용 purified diet(AIN-76)에 CdCl<sub>2</sub>를 이용하여 Cd농도가 각각 0, 25, 50, 100 및 250ppm이 되도록 첨가하였다. 생후 7주령(평균체중 231±14g)된 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐 30수를 체중에 따라 완전임의 배치법으로 6수씩 5군으로 나누어 8주간 사육하였다. 증체량, 사료섭취량 및 음식량은 카드뮴 첨가수준이 높을수록 유의하게 감소한 것으로 나타났으며, 장기무게에 있어서 특히 신장과 정소의 무게는 카드뮴 첨가수준이 높을수록 비대하였고 처리구간 유의한 차이가 있었다(P<0.05). Hematocrit치와 hemoglobin함량 역시 Cd 첨가수준이 높을수록 감소하였고 처리구간 유의한 차이가 있었다(P<0.05). 식이중 카드뮴의 간과 신장조직에의 평균 축적율은 간 조직이 34.1%, 신장조직이 54.3%이었고, 저수준의 Cd 투여군이 고수준의 Cd 투여군 보다 간과 신장조직에의 축적율이 대체로 높았다. 간 조직중 metallothionein(MT) 함량은 대조군(A)이 30.0μg/g인데 비해 250ppm 투여군(E)에서는 138.6μg/g으로 카드뮴 투여수준에 따라 MT 함량은 유의한 영향을 받은 것으로 나타났다. 정자농도는 대조군에 비해 Cd 투여수준에 따라 유의한 감소 경향(P<0.05)이었고, 정자 활력은 비록 통계적인 차이는 없었으나 대조군에 비해 Cd 투여군에서 낮은 경향이었다. 한편 카드뮴 투여가 조직 병변에 미치는 결과를 보면 육안병변의 경우 대조군에 비하여 Cd 100ppm과 250ppm 투여군의 흰쥐에서 외관상 수척되어 있었고, 특히 250ppm투여군의 흰쥐에서 신장과 고환의 현저한 위축이 관찰되었다. 병리조직학적 검사에서 Cd투여군에서 간상간세포의 변성, 간세포와 간세포사이의 모세혈관이 sinusoid에서의 호산성물질의 저류 및 Kupffer cell의 활성화가 관찰되었다. 신장의 경우 Cd투여군에서 세뇨관 상피세포의 변성 및 호염성병변이 관찰되었으며 고환에서는 Cd투여 농도에 의해서 세포변성, 정자세포수의 감소 및 거핵세포의 출현이 관찰되었다. 따라서 카드뮴에 장기간 노출은 성선조직의 변화에 의해 정자활력 및

농도의 감소가 일어나고 이로 인해 번식효율이 저하되는 한 요인으로 작용되는 것으로 사료된다.

## V. 인용문헌

1. American Institute of Nutrition. 1977. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, 107:1340-1348.
2. A.O.A.C. 1980. Official Method of Analysis (13th), Association of official analytical chemists, Washington, D.C.
3. Cherian, M.G. and M. Nordberg. 1983. Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. *Toxicology*, 28:1
4. Clausen, J. and S.C. Rastolgi. 1977. Heavy metal pollution among autoworkers : Lead. *Brit. J. Ind. Med.*, 34:208-215.
5. Coleman, J.E. and B.L. Vallee. 1961. Metallo-carboxypeptidase stability constants and enzymatic characteristics. *J. Biol. Chem.*, 236:2244-2251.
6. Duncan, D.B. 1957. Multiple range tests for correlated and heterocedastic means. *Biometrics*, 13:164-176.
7. Eaton, D.L. and B. F. Toal. 1982. Evaluation of the Cd/hemoglobin affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 66:134.
8. FAO/WHO. 1972. Sixteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Tech. Rep. Ser., No 505 : 20~24. WHO/Geneva.
9. Friberg, L. 1950. Health hazards in the manufacture of alkaline accumulation with special reference to chronic cadmium poisoning. *Acta Med. Scand.*, 138(Suppl. 240):1-124.
10. Garvey, J.S. 1984. Metallothionein : Structure /Antigenicity and Detection /Auantitation in normal physiological fluids. *Environ. Health Perspect.*, 54:117-127.
11. Groten, J.P., E.J. Sinkeldam, J.B. Luten and P.J. V. Bladeren. 1990. Comparison of the toxicity of inorganic and liver-incorporated cadmium:a 4-wk feeding study in rats. *Fd. Chem. Toxic.*, 28:435-441.
12. Hamilton, D.L. and L.S. Valverg. 1974. Relationship between Cd and Fe absorption. *Am. J. Physiol.*, 227:1033-1039.
13. Mahaffey, K.R. 1981. Nutritional factors in lead poisoning. *Nutr. Rev.*, 39:353-360.
14. Mayer, D.T., D. Squires and R. Bogart. 1947. In "An Investigation of the Staining Principle & Background stain in the Differentiation of Live from Dead Spermatozoa", *Abst. J. of Animal Sci.*, 6:499.
15. Memon, M.A. and R.S. Ott. 1981. Methods of semen preservation and artificial insemination in sheep and goats. *World Rev. Anim. Prod.* 17(1):19-25.
16. Noran, A.M., T.K. Mukherjee and R. Abdullah. 1998. Semen quality assessment of local Katjang and cross-bred(Katjang×German) bucks. *Australasian J. of Animal Sci.*, 11(4) :445-449.
17. Onosaka, S. and M. G. Cherian. 1982. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 63:270.
18. Page, A.L. and A.C. Chang. 1986. Cadmium, Springer-Verlag, pp 33~75, Berlin Heidelberg Germany.
19. Nordberg, G.F., M. Goyer and M. Nordberg. 1975. Comparative toxicity of cadmium-metallthionein and cadmium chloride on mouse kidney. *Arch. Pathol.*, 99:192-197.
20. Revis, N.W. and T.R. Osborne. 1984. Dietary protein effects on Cd and metallothionein accumulation in the liver and kidney of rats. *Environ. Health Perspect*, 54:83-91.
21. Shaikh, Z.A. and O.J. Lucis. 1972. Cadium

- and Zinc binding in mammalian liver and kidneys. Arch Environ. Health, 24 : 419-425.
22. Shannon, P. and B. Curson. 1987. The effect of ions and caffeine on the maintenance of motility of bovine spermatozoa diluted in egg yolk buffer. Anim. Reprod. Sci., 15: 161-168.
  23. Squibb, K.S. and R.J. Cousin. 1974. Control of cadmium binding protein synthesis in rat liver. Environ. Physiol. Biochem., 4:24-30.
  24. Stowe, H.D. and M. Wilson, 1972. Clinical and morphological effects of oral Cd toxicity in rabbits. Arch. Pathol., 94:389-395.
  25. Suzuki, T.K. 1984. Studies of cadmium and metabolism by the kidney. Environ. Health Perspect., 54:21-30.
  26. Tampion, D. and R. A. Gibbons. 1963. Effect of pH on the swimming rate of bull spermatozoa. J. Reprod. Fertil., 5:249-258.
  27. Valverg, L.S., D.L. Sorbe and D.L. Hamilton. 1976. Gastrointestinal metabolism of Cd experimental iron deficiency. Am. J. Physiol., 231:461-468.
  28. 권오란, 김미경. 1992. 식이 단백질과 Ca 수준이 흰쥐의 Cd 중독과정중 Metallothionein과 조직의 형태변화에 미치는 영향. 한국영양학회지, 25:360-378.
  29. 김운성, 이철호, 김성조, 이주돈, 문광현, 백승화. 1995. 알로에 첨가식이 흰쥐의 카드뮴 독성에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 27:555-563.
  30. 김정현, 조남준, 박성배. 1989. 대중음식 중 중금속 함량. 한국영양과학회지, 18:316-320.
  31. 노정해, 한찬규, 이남형, 정용기. 1997. 돼지고기를 단백질 급원으로한 식이가 쥐의 체내 카드뮴 대사에 미치는 영향에 대한 연구. 한국축산학회지, 39(5):605-616.
  32. 백태홍, 김천호, 전세열. 1984. 영양학실험, 수확사, pp 35-36.
  33. 송미란, 이서래. 1986. 서울시내 대중식사로 부터 중금속의 총섭취량 평가. 한국식품과학회지, 18:458-467.
  34. 이명희. 1994. 단백질에 결합된 카드뮴과 CdCl<sub>2</sub>를 섭취한 쥐에서 카드뮴의 체내 축적 및 분포의 차이. 한국영양학회지, 27:828-836.
  35. 이해영, 김미경. 1988. 식이내 cadmium과 단백질 수준이 흰쥐의 체내 단백질대사 및 cadmium 중독에 미치는 영향. 한국영양학회지, 21(6):410-420.
  36. 전수영, 이순재. 1993. 카드뮴으로 중독된 흰쥐의 간장 및 위장에서의 Metallothionein 합성에 관한 연구. 한국영양학회지, 26:156-163.
  37. 정규철, 박정덕, 조병희. 1988. 급성카드뮴 중독의 치사량과 혈액 및 간조직에 미치는 영향. 중앙대학교 의대지. 13(1):31-43.
- (접수일자 : 1999. 1. 20. /채택일자 : 1999. 2. 15.)