

## 녹차가 납 중독된 흰쥐의 간장에 미치는 형태학적 연구

정 경 아, 노 영 복\*  
조선대학교 자연과학대학 생물학부

### Histological Study on the Effects of the Green-Tea in Rat Liver Toxicated by Lead

Kyoung A Chung and Young Bok Roh\*  
Dept. Biology, College of Natural Science, Chosun University,  
375 Seosuk-dong, Dong-gu, Kwangju, 501-759 Korea  
(Received March 14, 2000)

#### ABSTRACT

To investigate the defensive effect of green tea against the lead toxicity, Sprague-Dewley rats (150 gm) were divided into 5 groups; the control group, the group treated with lead for 4 weeks (Group A-1), the group treated with lead and green tea for 4 weeks (Group A-2), the group treated with lead for 8 weeks (Group B-1), and the group treated with lead and green tea for 8 weeks (Group B-2). The lead acetate (500 ppm) was injected two times for one week into the abdomen and green tea solution (3 g/100 ml distilled water) offered freely.

In the liver cell, The cristae of mitochondria were enlarged, the rough endoplasmic reticulum (rER) extended and many lysosome observed on the Group A-1. The cristae of mitochondria were enlarged and many lysosome observed, but nucleus was normal on the Group A-2. All of observed parts on the Group B-1 deeply wounded by lead than the group A-1. In the Group B-2, the mitochondria and rER were increased in number than the Group B-1 and the nucleus was observed normally.

**Key words** : Green Tea, Liver, Pb

#### 서 론

화학공업의 발달과 더불어 공업용 약품으로 사용되고 있는 납은 연판이나 전기 케이블의 보호, 연판으로서 황산제조 연실, 기타 화학공업의 각종장치,

축전의 극판, 활자합금, 총탄, 축반이 합금, 땀납, 석기 합기, 장식, 완구 및 안료로 사용되고 있다(Alvares. et al., 1972).

이러한 납은 자연계에 존재하는 환경오염 중금속의 하나로서 인체에도 미량 존재하며, 적은 양의 흡수에도 독성을 일으킬 가능성이 큰 원소이다. 오염된

\* Correspondence should be addressed to Dr. Young Bok Roh, Department of Biological Science, College of Natural Sciences, Chosun University, #375 Seosuk-dong, Kwangju, 501-759, Korea. Ph.: (062) 230-6654, FAX: (062) 230-4326.  
Copyright 2000 Korean Society of Electron Microscopy

식품, 사료, 음료수 또는 대기 중에 존재하는 납은 소화기 계통과 호흡기 계통을 통하여 인체내에 쉽게 들어올 수 있다(Schroeder et al., 1968; Barltrop et al., 1971; Russo et al., 1988).

인체내에 납이 축적되면 체중감소를 비롯하여 신경계, 소화기계, 생식기계, 및 비뇨기계 등에 예민한 감수성이 나타나고 신경학적 증상 등에 유해작용이 있다고 보고되었다(Goyer et al., 1970; Barltrop et al., 1971).

이처럼 납이 인체에 미치는 영향에 관하여 많은 연구가 이루어졌고, 체내의 중독증상을 완화하기 위하여 예전에는 EDTA (Hilmy et al., 1986), BAL · DMSA (Cantilena & Klaassen, 1982) 등의 화학물질을 사용하였지만, 최근에는 주변에서 쉽게 구할 수 있는 생물질 (Sheo et al., 1994)을 이용하고 있다.

이 중에서 차(*Thea Sinensis* L.)나무는 후피향나무과에 속하는 상록관목으로 식물분류학상 커피, 카카오 등과 같이 기호작물이며 원작지는 인도의 아쌈지방과 중국의 사천성, 운남성 일대로 알려져 있다(Lee, 1989).

차엽의 성분에는 vitamin, mineral, lipid, 당을 포함한 탄수화물 및 유기산과 amino acid가 함유되어 있고, 또한 caffein, theobromine, theophylline을 함유하는 alkaloid와 theaflavin, flavonoid, flavanol, tannin을 함유하는 poly phenolic 성분이 들어있다(Graham, 1992). 녹차의 ascorbic acid는 수용성의 보린성 성분으로 일반 채소 유출액중의 산에 비교해 안정하고 90%가 효력이 큰 환원형으로 유출액중에 포함되어 있는 caffein, tannin, 당류의 혼합물이 항산화제로서 작용하는 것으로 알려져 있다(Jang, 1986).

녹차에 함유되어 있는 caffein, theobromine은 녹차의 정미성분으로 중요할 뿐 아니라 각성, 강장, 이뇨 작용 및 심근과 신경중추를 자극하고 근육을 이완시키며 위산분비와 배뇨를 촉진하며 원형질 유지지방산과당분을 상승시켜 약리대사를 활성화시키고 산소 소비 증가로 신진대사율을 증가시키며 또한 *Aspergillus parasiticus*의 실험에서 강력한 발암물질의 하나인 aflatoxin의 생성을 억제하는 작용을 하며 뇌의 adenosine receptor에 작용한다고 보고하였다(Lee, 1989).

Tannin은 phenol기를 다량 함유하는 분자량이 큰 중합체로 녹차 생엽에는 10~20% 함유되어 있는데, tannin은 단백질과 결합하는 특성을 지닌 poly phenol을 총칭하는 것으로 탄닌 원래의 화합물과 단백질의 결합은 탄닌의 hydroxyl기와 단백질의 활성 부위와의 공유 결합에 의한 반응으로 고도의 소수성 아미노산 잔기와의 소수성 결합을 포함하는 2단계 기작에 의한 탄닌 복합체의 침전물을 형성한다(Cho et al., 1993). Tannin의 화학성분중에 가장 중요한 것의 하나로 차의 水色, 滋味 및 향기 등에 밀접한 관계가 있는 것이 catechin 유도체이며 주요 작용으로는 항균 작용, 감상선 기능 항진 억제, 혈압강화작용, 항산화작용, 암발생억제, cholesterol 재흡수 억제, 충치예방, 혈소판 응집 억제작용이 있다고 알려져 있다(Chung & Wang, 1993; Goldbohm et al., 1996).

특히 차잎의 성분에서 polyphenol계 tannin 성분중의 하나인 catechin이 많이 함유되어 있으며 이 성분으로부터 차는 수증의 각종 중금속류의 포집제거 및 흡착제로서의 효과가 있다고 알려져 있다. 그러나 차중 catechin 성분이 가장 많은 비발효성 녹차를 흡착제로 이용한 납 중독 완화에 대한 연구가 미비하여 본 연구는 녹차를 이용하여 녹차가 납중독 완화에 미치는 효과를 알아보고자 간장에서의 조직학적 실험을 시행하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

체중 150 g 내외의 외견상 건강한 Sparague-Dewley계의 웅성 rat 35마리를 삼육(주)에서 분양받아 1주일 안정후 실험에 사용하였다. 실험동물은 각군당 7마리씩 분주하여 대조군, 납 단독투여군, 납-녹차투여군으로 나누었다. 납 단독투여군에는 Lead Acetate (500 ppm)를 이용하여 1주일에 2번씩 복강 투여하였다. 납-녹차투여군은 납 단독투여군과 같은 방법으로 납을 투여하고 납 투여한 후 15일부터 시판중인 녹차(태평양(주))를 90°C 증류수 100 ml당 tea 3g을 10분간 침수시킨 후 여과하여 식수로 공급하였다. 각군의 실험동물은 4주, 8주간 사육하였다.

## 2. 전자현미경 관찰

24시간 절식시킨 후, ether로 마취시켜 흉곽을 열고 간장을 적출하여 신속하게 1 mm<sup>3</sup>의 크기로 세절하고, 2% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde 고정액 (0.1 M cacodylate buffer, pH 7.4)에서 2시간 전고정하였다. 전고정한 후, 동일 완충액을 사용하여 3회 수세하였다. 1% Osmium tetroxide (OsO<sub>4</sub>) 용액으로 2시간 후고정한 다음 동일 완충액으로 3회 수세하였다. 상승농도순의 ethanol 계열하에서 탈수하고, propylene oxide를 사용하여 치환시켰다. Epon mixture를 만들어 propylene oxide와 1:1, 2:1로 3시간씩 침투시켰으며 Epon mixture 원액에서 overnight 후 포매하였다. 그리고 37°C에서 12시간, 45°C에서 12시간, 60°C에서 48시간 열증합하였다. Epon block을 1 μm로 박절하여 1% toluidine blue로 염색한 후, 광학 현미경으로 관찰하여 특정부위를 정하고 삭정한 뒤 Diatome을 부착시킨 ultramicrotome (MT-7000)으로 60 nm의 초박절편을 만들어 Uranyl acetate와 Lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경 (JEOL, JEM-100CX II)으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 간의 전자현미경적 결과

대조군에서 rER은 핵주위에 전형적인 층판구조를 형성하고 다수의 사립체가 관찰되었다. 핵막은 정상으로 나타났다 (Fig. 1).

A-1군은 rER의 수조가 팽대되고 막에 부착된 리보솜은 탈락되어 유리 리보솜의 수가 증가되었다. 여러 모양의 리소솜종 리포푸신과립과 수초상의 잔여소체가 관찰되었다. 사립체가 팽창되었고, 핵막은 팽대되어 내외막과 핵공이 불분명하게 나타났다 (Fig. 2).

A-2군은 rER은 핵주위에 3~5겹 정도의 층판구조로 배열되었다. 사립체는 팽창되었고, 리소솜이 관찰되었다. 핵은 둥근 형태이고, 이질염색질이 핵막의 주변과 핵소체 주변에서 전자밀도가 높게 관찰되었다 (Fig. 3).

B-1군은 rER의 수조가 심하게 팽대되어 공포화를

나타냈고 리보솜 수가 감소하였다. 전자밀도가 높은 2차 리소솜과 전자밀도가 낮은 1차 리소솜이 다수 관찰되었다. 사립체의 수는 감소하고 사립체능이 절단, 손실되었다. 핵은 약간 함입되어 불규칙하고 핵막이 팽대되었다 (Fig. 4).

B-2군은 일부 rER의 수조의 팽대가 되고 일부는 핵주위에 전형적인 층판구조를 형성하였다. B-1군에 비해 리보솜 수와 사립체의 수는 증가하고, 핵막은 정상으로 보였다 (Fig. 5)

## 고 찰

간은 당대사, 당단백질대사, 지질대사, 담즙생산, fibrinogen, prothrombin, heparin을 생산하며 장내에 들어오는 각종 독물질은 간으로 이송되며 제독화 한 후 담즙산으로, 암모니아 등으로 배설된다. 모세혈관 망에서는 식작용이 왕성한 Kupffer cell이 있어 간에 유입되는 유독성물질, 자체내 노후세포, 파괴된 적혈구, 이물질에 대하여 세포내에서 식작용, 제독을 하며 조절작용으로 적혈구 생산과 항빈혈인자인 Fe를 저장하는 기능을 한다 (Chung, 1995).

간의 전자현미경적 관찰에서 rER은 단백질 합성에 관여하는 중요한 소기관이며 이들의 막에 붙어 있는 리보솜은 대개 폴리솜의 형태로서 고리모양, 나선형 등으로 배열되어 있다. 핵막의 외막 및 세포막과 곳곳에서 연결되어 있어 세포내외의 환경사이에 일어나는 물질의 이동과 관련된 효소계, 막전위, 이온구배 등 다양한 기능이 알려져 있다 (Kim et al., 1994).

비비에 0.25 Pb mg/kg을 투여한 Ernesto et al. (1974)의 실험은 간세포에서 괴사한 rER이 확인되었다고 보고하였으며, 흰쥐에 150 CCl<sub>4</sub> mg/kg을 투여한 Bernacchi et al. (1980)의 실험은 rER의 소조가 확장되었으며 투여기간의 증가와 더불어 확장의 정도는 심하게 나타났다고 보고하였고, rER의 소조 확장파막에 부착된 리보솜의 탈락이 일어나 유리 리보솜이 증가되었다고 보고하였다. 흰쥐에 10 Pb mg/kg을 투여한 Ernesto et al. (1972)의 실험은 실험초기에는 rER이 신장되고 팽대되었으며 시간이 지날수록 rER의 산재와 sER의 증가가 나타났고 내외막이 분리되고 과립의 소실이 나타났다고 보고하였으며, 흰쥐에 3.9

Cd mg/kg을 투여한 Dudley (1984)의 실험은 rER의 확장과 수가 감소하였고 공포화 현상과 리보솜의 탈락에 대해 보고하였다. 또한 흰쥐에 100 CCl<sub>4</sub> mg/kg를 투여한 Smuckler et al. (1962)의 실험은 rER의 현저한 변화로 수조의 확장, 파열과 단절, 확장된 막의 표면에 부착된 리보솜과립이 탈락되어 유리 리보솜으로 관찰되었는데 이것은 간질질내 rER은 amino acid의 결합과 단백질합성이 이루어지는 장소로 rER의 손상 즉, rER의 확장은 단백질 합성이 억제되어 실험동물의 간독성과 관계된다고 보고하였다. 본 실험에서는 Ernesto et al. (1974)의 결과가 A-1군과 매우 비슷하였으며, Bernacchi et al. (1980)의 결과와 B-1군이 매우 비슷하였고, Ernesto et al. (1972)의 결과와 B-1군이 비슷하였으며, Dudley (1984)의 결과와 B-1군이 비슷하여 납중독으로 간세포이 손상되었다고 사료된다. 그러나 A-2군에서는 리보솜이 부착된 정상적인 형태의 rER이 층판구조를 형성한 것이 관찰되었으며, B-2군에서는 약간의 팽대현상만이 관찰되어 녹차투여시 납 중독에 의한 간장 조직 손상이 감소되었다고 사료된다.

사립체는 끊임없이 동적 상태를 유지하므로 팽대, 수축, 융합, 분열하며 세포질 내에서의 위치는 세포질 내에서 널리 산재되어 존재하거나 에너지가 요구되는 곳에 밀집되어 나타나기도 한다. 사립체에는 두 개의 단위막으로 쌓여있는데 각 단위막의 두께는 약 7 nm이며 두막사이에는 8~10 nm의 거리를 두고있다. 외막은 평활하며 내막은 안쪽으로 주름져서 사립체 능선을 이루고 있다. 사립체능선의 내면에는 ATPase가 있는 기본입자가 고르게 붙어있다. 사립체의 기질 속에는 환상의 DNA, RNA, 리보솜, 기질과립 등이 들어있다. 사립체의 기능은 세포의 생합성과 운동에 필요한 에너지를 생산하는 일이다. 탄수화물, 지방산과 아미노산은 사립체내에서 CO<sub>2</sub>와 물로 산화되고, 이때 유리된 에너지는 ADP와 inorganic phosphate로부터 ATP를 합성하는데 쓰인다고 알려져 있다 (Kim et al., 1994).

비비에 0.25 Pb mg/kg을 투여한 Ernesto et al. (1974)의 실험은 사립체의 내강이 확장되었고 사립체능이 굴곡, 수축되었으며 사립체의 모양이 불규칙해지고 사립체능이 소실되었다고 보고하였다. 흰쥐에 150

CCl<sub>4</sub> mg/kg을 투여한 Bernacchi et al. (1980)의 실험은 사립체의 팽대로 인해 사립체능의 배열이 흩어지고 확장되었으며 파열되어 사립체 수가 감소하였다고 보고하였다. 본 실험에서는 Ernesto 등 (1974)의 결과와 A-1, A-2군이 비슷하였으나 녹차를 투여한 A-2군은 A-1군보다 수의 증가가 관찰되었다. Bernacchi et al. (1980)의 결과는 B-1군과 매우 비슷하였다. 같은 기간의 B-2군에서는 사립체의 변형이 감소하였으며 수도 증가하여 녹차투여시 납 중독에 의한 간장 조직 손상이 감소되었다고 사료된다.

리소솜은 단일막으로 싸여 있으며 많은 가수분해 효소를 포함하고 있어 세포내소화를 수행하고 있다 (Kim et al., 1994).

비비에 0.25 Pb mg/kg을 투여한 Ernesto et al. (1974)의 실험은 다수의 리소솜이 나타났다고 보고하였는데 본 실험에서도 위와 같은 소견을 보였다.

비비에 0.25 Pb mg/kg을 투여한 Ernesto et al. (1974)의 실험은 핵이 수축되고 핵막이 확장되어 나타났다고 보고하였으며, 흰쥐에 0.25 Cd mg/kg을 투여한 Dudley (1984)는 핵내의 염색질 과립의 수가 증가되고 핵의 염색질의 융합과 핵인의 압축이 관찰되고 핵막이 내외로 팽대되었다고 보고하였다. 본 실험에서는 Ernesto et al. (1974)과 Dudley (1984)의 결과와 같이 A-1, B-1군과 매우 비슷하였다. 그러나 녹차를 투여한 A-2, B-2군에서는 정상적으로 나타났다.

납에 의한 간독성으로 A-1, B-1군에서 핵의 핵막이 불규칙할 뿐만 아니라 rER, 사립체의 변형과 리소솜의 관찰이 되어 DNA, RNA 활성화에 직접적인 영향을 미쳤을 것으로 보이며 또한 녹차를 투여한 A-2군에서 핵의 핵막과 rER의 정상적인 관찰과 B-2군에서 정상적인 핵막이 관찰되고 B-1군에 비교하여 증가된 사립체를 관찰 할수 있었다.

본 연구의 결과를 종합하여보면 납중독된 흰쥐에서 간장에서 많은 조직학적 변형이 관찰되었으나 녹차를 먹인 실험군에서는 조직학적 변화가 완화되었다.

상기와 같이 우리가 일상적인 기호식품으로 마시는 차에 다량함유하고 있는 polyphenol계 tannin 성분 중의 하나인 catechin이 납과 같은 중금속의 독성을 완화시킬 수 있다고 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Alvares AP, Leigh S, Cohn J, Kappas A: Lead and methyl mercury: Effects of acute exposure on cytochrome P-450 and the mixed function oxidase system in the liver. *J Exp Med* 135 : 1406-1409, 1972.
- Bartrop D, Barrett AJ, Dingle JT: Clinic and experimental subcellular distribution of lead in the rat. *J Lab Clin Med* 77 : 705-712, 1971.
- Bernacchi AS, Castro CR, Ferreyra EC, Toranzo EGD, Fenos OM, Castro JA: Pyrazole prevention of CCl<sub>4</sub>-induced ultrastructural changes in rat liver. *Br J Exp Path* 61 : 505-511, 1980.
- Cantilena LR, Klaassen CD: The effect of repeated administration of several chelators on the distribution and excretion of cadmium. *Toxic Appl Pharmacol* 66 : 361-367, 1982.
- Cho YJ, Chun SS, Choi C: Inhibitory effect of condensed tannins isolated from korean green tea against xanthine oxidase. *J Korean Soc Food Nutr* 22 : 418-422, 1993. (Korean)
- Chung SY, Wang ZY: Tea and cancer. *J Nat Cancer Inst* 85 : 1038-1049, 1993.
- Chung YT: Human physiology. *Chunggoomoonhwasu*, pp. 291-293, 346-348, 1995. (Korean)
- Dudley RE, Donald JS, Curtis DK: Time course of Cd-induced ultrastructural change in rat liver. *Toxic Appl Pharmacol* 76 : 150-160, 1984.
- Ernesto OH, Rafael AT, Luzio JL: Ultrastructural alterations of liver and spleen following acute lead administration in rat. *Exp Mol Path* 17 : 159-170, 1972.
- Ernesto OH, Nicholas RD, Klaus H, Lawrence B, Joan C: Ultrastructural changes in the liver of Baboons following lead and endotoxin administration. *Int Aca Path* 30 : 311-319, 1974.
- Goldbohm RA, Hertog MGL, Brants HAM, Popprl GV, Brandi PA: Consumption of black tea and cancer risk: a prospective cohort study. *J Nat Cancer Inst* 88 : 93-100, 1996.
- Goyer RA, May PBS, Maxine MCBS, Martin RK: Lead and protein content of isolated intranuclear inclusion bodies from kidney of lead poisoned rat. *Lab Invest* 22 : 245-251, 1970.
- Graham HN: Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. *Prev Med* 21 : 334-350, 1992.
- Hilmy AM, Domaity NE, Daabees AY: Effect of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on acute mercury poisoning of toad. *Comp Biochem Physiol* 85C : 253-254, 1986.
- Jang JO: Effects on blood pressure, heart rate, and serum lipid levels in normal cats and spontaneously hypertensive rat by administration of korean native green tea Hanyang University doctoral thesis. 1986. (Korean)
- Kim WG et al.: Ultrastructure of cell. *soomoonsa*. pp. 266-267, 291, 352-353, 1994. (Korean)
- Lee CB: Illustrated flora of korea. *Hyangmoonsa*. pp.542, 1989. (Korean)
- Lee MG: Cooking characteristics of green tea leaf. Hanyang University master's thesis. 1989. (Korean)
- Russo MA, Kapoor SC, Von Rossum GD: Localization of lead in the kidney and liver of rats treated in vivo with lead acetate: ultrastructural studies on unstained sections. *Br J Exp Path* 69 : 221-234, 1988.
- Schroeder HA, Brettleboro V, Tipton IH: The human body burden of lead. *Arch Environ Health* 17 : 965-978, 1968.
- Sheo HJ, Kim YS, Kim KS, Jung DL: Effects of garlic on toxicity of mercury in rat. *J Korean Soc Food Nutr* 23 : 908-915, 1994. (Korean)
- Smuckler EA, Iseri OA, Benditt EP: An intracellular defect in protein synthesis induced by carbon tetrachloride. *J Exp Mol* 116 : 55-83, 1962.

## &lt; 국문초록 &gt;

흰쥐의 간장에서 납 독성에 대한 녹차의 방어효과를 알아보기 위하여 150 g 내외의 흰쥐를 대조군, 납 단독투여군, 납-녹차투여군으로 나누어 4주, 8주간 lead acetate (500 ppm)를 1주에 2번씩 복강 투여하였고, 녹차침수액 (3 g of tea/100 ml of water)은 식수로 공급하였다.

A-1군은 사립체와 rER의 수조가 팽대되고, 유리 리보솜의 수가 증가되었다. 다수의 리소솜이 관찰되었다. A-2군은 사립체가 팽대되었고, 리소솜이 관찰되고 핵은 정상으로 나타났다. B-1군은 rER의 수조가 심하게 팽대, 감소되었고 다수의 리소솜이 관찰되었다. 사립체의 수는 감소하고 사립체능이 손실, 절단되고 모양은 변형되었다. 핵이 약간 함입되어 불규칙하였다. B-2군은 B-1군보다 rER과 사립체의 수가 증가하고, 핵은 정상으로 관찰되었다.

## FIGURE LEGENDS

\*Each scale bar on the figures equals 1  $\mu\text{m}$ .

- Fig. 1.** An electron micrograph of hepatic cell of group control showing Mitochondria (M), rough endoplasmic reticulum (rER) and Nucleus (N).
- Fig. 2.** An electron micrograph of hepatic cell of group A-1 showing Mitochondria (M), Lysosome (Ly), rough endoplasmic reticulum (rER) and Nucleus (N).
- Fig. 3.** An electron micrograph of hepatic cell of group A-2 showing Mitochondria (M), Lysosome (Ly), rough endoplasmic reticulum (rER) and Nucleus (N).
- Fig. 4.** An electron micrograph of hepatic cell of group B-1 showing Mitochondria (M), Lysosome (Ly), rough endoplasmic reticulum (rER) and Nucleus (N).
- Fig. 5.** An electron micrograph of hepatic cell of group B-2 showing Mitochondria (M), Lysosome (Ly), rough endoplasmic reticulum (rER) and Nucleus (N).





