

桑葉 Ethyl Acetate 추출물이 카드뮴의 흡입독성에 미치는 영향

정재열* · 송용선 · 이기남

원광대학교 한의화전문대학원 제3의학과

Effects of Ethyl Acetate Extracts of Folium Mori on Cadmium Inhalation Toxicity

Jaeyeal Jeung*, Young Sun Song, Ki Nam Lee

The Third Medicine, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

For the experiment of the effects between cadmium aerosol inhalation toxicity and ethyl acetate extracts of Folium Mori, 4 inhalation exposure groups of rat were exposed to cadmium aerosol in air by whole-body inhalation exposure for 6 hours/day, 5 days/week, and 4 weeks. Cadmium concentration in the air was 0.96mg/m³ and mass median diameter (MMD) was 2.48μm with 1.85 of geometric standard deviation(GSD). Intraperitoneal injections of ethyl acetate extracts of Folium Mori to inhalation exposure groups were performed for 4 weeks and the results were as follows: The highest body weight gain for 4 weeks and food intake per day were 159.29/4 weeks in treated group III and 18.45g/day in treated group I, respectively. The highest lung and liver weights were 1.31g in treated group I and 9.42g in treated group III, respectively. The highest kidney weight was 2.21g from treated group I. The lowest cadmium content in lung was 86.39μg/g from treated group III and the lowest cadmium concentration in blood was 2.72μg/dl from treated group II. Cadmium concentrations of 22.09μg/g in liver and 24.82μg/g in kidney were the lowest from inhalation exposure group I and III, respectively. For weekly cadmium concentration in urine, the value of the fourth week from treated group III was the highest, 1.35μg/ml. For weekly cadmium concentration in feces, the values of the second and fourth week from treated group I were the highest, 1.11μg/g. The highest metallothionein concentration in lung was 31.85μg/g from treated group III and the highest metallothionein concentration in liver was 205.77μg/g from treated group III. The highest metallothionein concentration in kidney was 206.55μg/g from treated group III. The highest Hct and Hb values were 38.26% and 11.63g/dl from treated group III, respectively. The highest RBC and WBC values were 7.68×10⁶/mm³ and 9.85×10³/mm³ from treated group I, respectively.

Key words : Cadmium Inhalation Toxicity, Cadmium Aerosol, Folium Mori, Whole-Body Inhalation Exposure, Mass Median Diameter(MMD), Geometric Standard Deviation(GSD), Metallothionein

서 론

카드뮴은 때때로 아연과 관련되어 존재하고 주로 아연 처리의 부산물로 얻어지는 연성이 있는 은백색의 금속이다¹⁾. 카드뮴은 니켈-카드뮴 축전지(35%)의 생산에 주로 이용되나 금속도금(30%), 색소(15%), 플라스틱 합성(10%), 그리고 기타 용도(10%)에 또한 이용된다. 카드뮴의 독성은 많이 연구되고 있고 투여량이 높다면 카드뮴은 거의 모든 장기조직에 영향을 준다²⁾. 카드뮴의 급성영향은 폭로의 경로에 의존한다. 카드뮴에 대한 급성 흡

입폭로의 증상은 4-10시간 폭로 후에 발견되고 처음에는 금속 흡열(열, 오심, 구토, 두통, 기침, 호흡곤란, 비인두 자극)의 양상을 보이나, 시간이 지나면 화학적 폐렴 그리고 잠재적으로 치명적인 폐 부종으로 악화된다^{2,5)}. 치명적인 투여량은 카드뮴의 존재 또는 카드뮴의 흡입 유해성을 의식하지 못했던 폭로된 사람이 흡입한 것일 수 있다⁶⁾. 흡입폭로 후 카드뮴의 흡수는 입자크기와 용해도에 의존하고 그 범위는 흡입된 양의 20-50%이다. 치명적인 투여량은 1시간 동안 50mg/m³^{7,8)} 그리고 5시간 동안 9mg/m³²⁾으로 추정되고 있다. 높은 수준 폭로 또는 낮은 수준에서 만성 폭로후의 회복은 폐 섬유화를 동반한다⁹⁻¹¹⁾.

카드뮴 노출 후에, 카드뮴은 호흡기계와 소화기 양자를 통해 흡수되고 초기에 간에서 발견되는 것으로 나타났다. 간에서 카드

* 교신저자 : 정재열, 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의화전문대학원
· E-mail : jaeyeal@wonkwang.ac.kr · Tel : 063-850-6941
· 접수 : 2003/03/18 · 수정 : 2003/04/26 · 채택 : 2003/05/28

몸은 신장으로 운반된다¹²⁾. 이 운반은 metallothionein을 이용하는 것으로 증명되었다. 신장에서 생물학적 반감기는 10에서 30년 인 것으로 보고되고 있다¹³⁾. 소량이 소변으로 배설된다. 일반적으로 소변에서의 수준은 만성노출을 반영하고 최근 노출에 대해 좋지 않은 지표인 반면에¹⁴⁾, 가능한 간장에서의 보유결과로, 높은 수준의 일시적인 노출은 소변 카드뮴 수준에서 순간적인 증가를 유발할 수 있는 것으로 또한 보고되고 있다¹⁵⁾.

인간에서 급성의 고농도 카드뮴 흡 노출은 폐 부종¹⁶⁾ 그리고 신장의 회저(necrosis)와 연관되어 있다¹⁷⁾. 비록 폐기종, 폐 기능의 감소 그리고 경미한 방해성 폐 질환이 cadmium sulfide, cadmium-zinc sulfide, cadmium carbonate 그리고 카드뮴 흡 노출과 연관성이 있다고 할지라도¹³⁾, 만성노출은 일차적인 신장장해와 연관되어 있다. 산업장에서 카드뮴과 그 화합물을 다루는 작업자의 흡입에 의한 카드뮴 중독은 효과적으로 치료하기가 어렵고 킬레이트 요법이 추천되고 있으나 일부의 킬레이트제는 신장독성으로 인해 사용이 엄격히 제한되고 있고 카드뮴에 노출된 후 즉시 투여되었을 때 효과가 있고 만성적으로 노출되었을 때는 급속히 효과가 떨어지다고 한다^{18,19)}. 세계보건기구에서는 직업적 카드뮴 중독에 대해 특별한 의학적 치료방안이 없다고 하여 의학적, 공학적 예방조치의 중요성만을 강조하고 있다²⁰⁾. 강성호 등, 박재수 등은 한약재에서 추출한 성분으로 카드뮴에 흡입 중독된 흰쥐에서의 독성완화 효과를 보고한 바 있고^{21,22)} 일부 연구는 카드뮴 중독에 대한 한약재 추출물의 경구 투여를 통한 독성완화 효과를 보고하고 있으며 이러한 접근방안에 대한 연구의 중요성을 언급하였다. 카드뮴 흡입 노출에 의한 체내로의 흡수는 폐를 통해서이고 혈액을 통해 표적장기인 간장과 신장에 분포되고 배설되는 과정을 거친다.

따라서 이러한 사항을 고려하여 한방에서 清肺止咳, 凉血止血, 그리고 滋養肝腎 등의 용도로 사용되는 한약재중 폐, 혈액, 간장, 그리고 신장의 병증을 다스리는데 사용되는 桑葉(Folium Mori)을 문헌고찰과 예비실험 과정을 거쳐 선정하였다. 카드뮴 에어로졸에 흡입노출된 흰쥐의 혈액을 포함한 폐, 간장, 신장의 카드뮴 농도, 그리고 폐, 간장, 신장의 metallothionein 농도, 배설의 지표인 소변과 대변의 카드뮴 농도를 위주로 桑葉 물 추출물의 효과를 연구하였고 흡입독성학의 기본적 평가요소인 식이섭취량, 체중증가량, 자익의 무게, 그리고 혈구용적치, 헤모글로빈, 적혈구, 백혈구와 같은 혈액학적 변수를 추가로 조사하였다. 桑葉 ethyl acetate 추출물의 카드뮴 흡입노출에 대한 영향을 조사하여 카드뮴의 흡입노출로 인한 독성 연구에 기초자료를 제공하고자 시도하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 검액의 조제

본 실험에 사용한 桑葉은 경상북도 상주시 외서면에서 가을 철에 서리가 내린 후 채취하여 햇볕에 말려 시료로 사용하였다. 건조시킨 후 분쇄기로 마쇄하여 분말로 만들었다. 동근 플라스틱

에 桑葉 분말과 분말의 용량 5배에 해당하는 ethyl acetate(E 7770, Sigma)를 첨가하여 50℃ 수욕조에서 진탕시키면서 24시간 동안 3회 추출하였다. 추출후 5000×g에서 30분간 원심분리시킨 다음 여과하여 회전 농축기(Rotary Evaporator N-1000, Eyela)에서 감압·농축하였고 그 후 동결 건조기에서 -40℃에서 2일간 완전히 건조시켜 정제된 건조 추출물 5.6g(수율 약 4.5%)을 얻었으며 이 시료를 필요에 따라 3차 증류수로 희석하여 검액으로 사용하였다.

2) 실험동물

카드뮴 흡입노출 실험을 위해 50마리 웅성(200-220g) Sprague-Dawley CD 흰쥐를 이용하였다. 흰쥐는 흡입노출 전에 최소 10일 동안 순응시켰다. 흰쥐들은 실험을 위해 각각 10마리로 무작위로 5개 그룹으로 분류하였다. 모든 흰쥐들은 12시간 조명주기가 있는 온도 대략적으로 23℃ 및 습도 대략적으로 50%가 제어되는 챔버에 있게 하였다. 삼양유지사료(주)의 마우스(쥐)용 배합사료 그리고 1차 증류수는 흡입노출 동안을 제외하면 자유로이 공급되었다. 카드뮴 에어로졸 흡입챔버에서 흡입노출시 노출시작 1시간 후 그리고 노출종료 후 1시간 후 하루에 2회 관찰하였다. 체중은 흡입노출 시작일 그리고 흡입노출 종료일 후 죽기 전까지 전자저울을 이용하여 매주 토요일에 측정하였으며 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감하여 실험기간중의 체중증가량으로 하였다.

2. 실험방법

1) 실험설계

실험 디자인과 방법은 Table 1에 제시되어있고 카드뮴 흡입노출 대조군과 처리군이 노출되는 공기중 카드뮴 에어로졸의 농도는 1mg/m³ 그리고 질량중위수직경(Mass Median Diameter: MMD)은 2.45μm로 설정하였으며 카드뮴 에어로졸 흡입노출 4주간 그리고 桑葉 ethyl acetate 추출물의 복강내 투여를 각각 4주간 수행하였다. 흰쥐들은 챔버 밖에 있는 동안에는 흰쥐 사육 케이지에 있게 하였고 흡입챔버에 있는 동안에는 10마리를 그룹으로 하여 카드뮴 에어로졸에 흡입노출시켰다. 흰쥐는 1주일에 1회 소변과 대변 시료의 채취를 위해 대사 케이지에 각각 있었다. 대사 케이지는 사용하기 전에 카드뮴 오염을 감소시키고자 증류수로 세정한 후 10% 질산으로 세척하여 사용하였다¹⁸⁾. 카드뮴 에어로졸을 발생시키기 위해 사용한 시약은 cadmium chloride(C 2544, Sigma)이었고 3차 증류수 2ℓ에 2.5g을 완전히 용해시켜 네블라이징 용액으로 사용하였다.

Table 1. Inhalation Exposure Design and Treatment of Ethyl Acetate Extracts of Folium Mori

Group	N	Cd Concentration in Air, mg/m ³	MMD ^a of Cd Aerosol, μm	Dosage, mg/kg
Normal	10	0	-	-
Control	10	1	2.45	Saline Only
Treated I	10	1	2.45	20
Treated II	10	1	2.45	40
Treated III	10	1	2.45	80

aMass Median Diameter.

2) 흡입챔버와 카드뮴 에어로졸 흡입노출

카드뮴 흡입 대조군과 노출군에 대한 카드뮴 에어로졸의 흡입노출은 1일 6시간, 1주 5일, 및 4주간 수행하였다. 흡입노출 실험동안 흰쥐가 머물러 있었던 스테인레스 스틸로된 흡입노출챔버는 전체 용적 0.66m³이었고 유효용적은 0.50m³이었다. 장치는 설정된 노출농도를 발생시키고자 여러 가지 유량에서 동력학적으로 작동되었다. 유입공기의 입자제거를 위한 입자상 필터가 장착된 챔버, ultrasonic nebulizer 원리를 이용하는 에어로졸 발생기, 4개의 팬으로 구성된 배합챔버, 스테인레스 스틸로 제작된 흡입(노출)챔버(상방 흡입, 하방 배출), 배출되는 공기를 정화하기 위한 HEPA 필터가 장착된 챔버로 구성되어 있으며 공기의 이동과 용량 조절은 HEPA 필터가 장착된 챔버에서 송풍기와 댐퍼를 이용하여 이루어졌다. 개략적인 배치도는 Fig. 1과 같다.

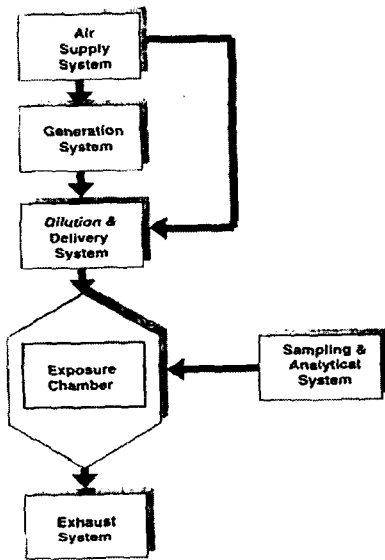


Fig. 1. System for Cadmium Aerosol Inhalation Exposure.

에어로졸 발생기에서 네블라이징되는 용액의 온도는 50℃ 이었고 주 덕터로 유입되기 전의 입구 덕터의 온도는 50℃이었다. 이러한 에어로졸 발생시의 조건은 선행한 정재열 등의 연구에서 설정된 조건이었다²³⁾.

흡입노출 챔버내의 카드뮴의 공기중 농도와 그 변화를 관찰하고자 1주일에 5회 NIOSH 분석방법 P&CAM 173에 기초하여 개인시료포집기(224-PCXR8, SKC)를 이용하여 흡입노출 챔버 내의 공기시료가 포집되었고 시료포집유량은 1.5LPM(Liter Per Minute)으로 필터는 cellulose ester membrane 필터(225-5, SKC)를 이용하였다. 카드뮴 에어로졸의 입자크기분포(particle size distribution)와 입자의 크기는 5 채널 입자 카운터(Particle Counter KC-01C, Rion)를 이용하였다. 각각의 입자 직경에 대한 계수는 수동모드에서 5초 동안 동시에 공기용적 0.042ℓ에 대해 수행하였으며 10회 반복측정하여 분석자료로 이용하였다.

측정된 각 입경별 계수는 Hinds가 제시하는 아래의 공식을 이용하여 기하평균입경, 기하표준편차, 및 질량중위수입경을 계산하였다²⁴⁾.

$$\log \sigma_g = \left[\frac{\sum n_i (\log d_g - \log d_i)^2}{\sum n_i - 1} \right]^{1/2}$$

σ_g : 기하표준편차 d_g : 기하평균입경, μm n_i : 입자계수 d_i : 대표경, μm

$$\log d_{mmd} = \log d_g + 6.9 \log^2 \sigma_g$$

d_{mmd} : 질량중위수입경, μm d_g : 기하평균입경, μm σ_g : 기하표준편차

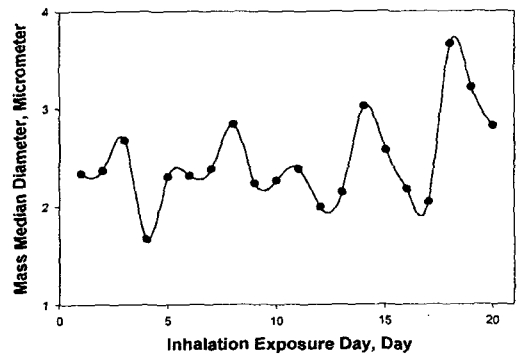


Fig. 2. Mass Median Diameter During Inhalation Exposure.

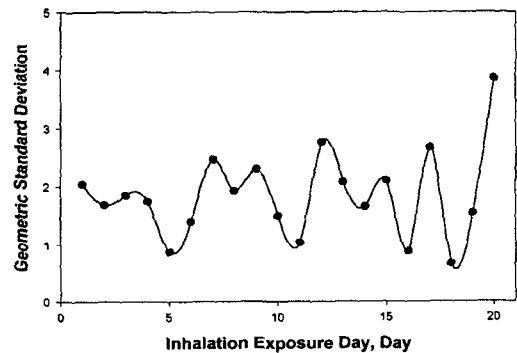


Fig. 3. Geometric Standard Deviation During Inhalation Exposure.

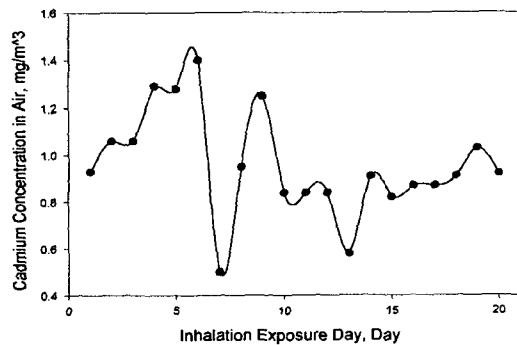


Fig. 4. Cadmium Concentration in Air During Inhalation Exposure.

카드뮴 에어로졸에 대한 흰쥐의 흡입노출 실험이 진행되는 동안에 흰쥐가 흡입·노출된 카드뮴 에어로졸의 질량중위수직

경, 기하표준편차 및 공기중 카드뮴의 농도는 Fig 2, 3 및 4와 같다. 카드뮴 에어로졸의 질량중위수입경은 2.48 μ m 기하표준편차는 1.85이었고 공기중 카드뮴 농도는 0.96 μ g/m³이었다. 변이계수는 질량중위수입경의 경우 0.19, 기하표준편차의 경우 0.41, 그리고 공기중 카드뮴 농도의 경우 0.24이었다.

3) 시료의 분석방법

4주간의 흡입노출에서 얻어진 공기시료는 전처리 과정을 거쳐 카드뮴 함량을 분석하였다. 소변과 대변 시료는 흡입노출 후 매주 토요일에 대사 케이지 및 관련된 도구를 이용하여 채취하였고 카드뮴 함량을 아래의 방법을 이용하여 전처리하고 분석하였다. 소변의 용적과 대변의 중량은 각각의 농도 계산을 위해 기록하였다. 흡입노출과 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여 실험종료 마지막 날에 정상군 및 흡입 노출군, 처리군으로부터 에테르 마취하에 복부 대동맥으로부터 헤파린 처리된 시험관에 혈액 시료를 채취하였고 폐, 간장, 및 신장시료를 분리하여, 폴리에틸렌 바이알에 패킹시켜 전처리를 수행하기 전까지 냉장고에 보관하였다.

(1) 공기시료

필터시료와 공시료의 전처리와 분석은 P&CAM 17325)에 기초하여 진행하였다. 시료와 공시료는 깨끗한 125ml 비이커에 옮기고 6.0ml 질산을 넣는다. 각 비이커를 시계접시로 덮고 시료가 용해되어 약간 노란 용액이 형성될 때까지 흡 후드에서 표면온도가 165 $^{\circ}$ C인 핫 플레이트상에서 가열시킨다. 회화가 완료되면, 시계접시를 제거하고, 10% HNO₃로 시료 비이커를 헹군다. 그리고 난 다음 비이커를 100 $^{\circ}$ C 스팀 욕조에 놓고 건조되게 한다.

일단 시료가 건조되고 난 후에, 10% HNO₃ 3-5ml로 비이커의 벽을 헹구고 잔류물의 용해를 위해 100 $^{\circ}$ C에서 5분간 재가열한다. 이 용액은 10% HNO₃와 함께 정량적으로 10ml 용량 플라스크에 옮기고 10% HNO₃로 용량까지 희석한다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150 $^{\circ}$ C에서 30초간, 가열은 300 $^{\circ}$ C에서 60초간, 그리고 원자화는 1950 $^{\circ}$ C에서 8초간으로 설정하였다. 필터 시료에서 카드뮴의 농도계산은 아래와 같다.

$$\mu\text{g cadmium}/\text{m}^3 = \frac{(C \times V_A) - B}{V \times F}$$

여기서: C = 시료에서 농도, $\mu\text{g}/\text{ml}$
 VA = 시료의 용적, ml
 B = 공시료에서 금속의 농도, μg
 F = 시료의 용적에서 측정에 이용되었던 시료 용적의 분율
 V = 시료포집된 공기의 용적, m³

(2) 혈액, 조직, 및 대변 시료의 카드뮴

혈액 및 조직 시료의 전처리와 분석은 NIOSH 분석방법 800526)에 의해 비이커에 정확하게 칭량된 양 10g의 혈액, 1.0g의 습한 조직(폐, 간, 신장, 장)을 옮기고 혈액시료에 10ml digestion acid 또는 각각의 조직 시료에 5.0ml digestion acid를 넣었다. 대변 시료는 110 $^{\circ}$ C 건조기에서 황량이 될 때까지 건조시켜서 550 $^{\circ}$ C muffle furnace에서 회화시켜 1g를 시료로 이용하였다. 2시간 동안 110 $^{\circ}$ C에서 가열하였고 시약 공시료(reagent blanks)와

같이 시작하였다. 250 $^{\circ}$ C까지 hotplate의 온도를 올리고 1ml(혈액) 또는 0.5ml(조직)가 남을 때까지 가열하였다. 비이커를 냉각시켰다. 용량 플라스크(혈액에 대해 10ml; 조직에 대해 5ml)로 비이커에 들어있는 내용물을 옮기고 탈이온수로 눈금선까지 희석하였다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150 $^{\circ}$ C에서 30초간, 가열은 300 $^{\circ}$ C에서 60초간, 그리고 원자화는 1950 $^{\circ}$ C에서 8초간으로 설정하였다. 시료에서 각 금속에 대해 측정된 용액농도, Cs($\mu\text{g}/\text{ml}$)에 평균 공시료 수치, Cb($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 고려하여 시료의 농도를 계산하였고 혈액에 대해서는 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 폐, 간, 신장, 장, 그리고 대변에 대해서는 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 환산하였다.

$$C = \frac{CsVs - CbVb}{M}, \mu\text{g}/\text{g}$$

(3) 소변중 카드뮴

1ml의 소변을 digestion tube에 옮기고 0.2ml 진한 질산을 넣고 digestion tube를 heating block에 넣어 약 3시간 동안 비점 이하의 온도에서 회화시켰다. 용량이 약 1/3으로 감소되었을 때, 30% H₂O₂ 0.4ml를 넣고 시료가 증발되어 거의 건조될 때까지 계속 가열하였다. 다음에 digestion tube를 냉각시킨 후 잔유물을 1% 질산에 용해시켰고 분석에는 20 μ l씩 주입하였다. 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)에서 분석시 건조는 150 $^{\circ}$ C에서 30초간, 가열은 300 $^{\circ}$ C에서 60초간, 그리고 원자화는 1950 $^{\circ}$ C에서 8초간으로 설정하였다. 시료 용액의 농도, 및 분석자료에서 공시료 평균, Cs($\mu\text{g}/\text{ml}$), Cb($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 계산하였다. 시료 용액의 용적, Vs(ml), 그리고 공시료의 용적, Vb(ml)를 이용하여, 채집된 소변의 용적, V(l)에서 각각의 금속 농도, C($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 계산하였다.

$$C = \frac{CsVs - CbVb}{V} \times 10^3, \mu\text{g}/\text{ml}$$

(4) 폐, 간장, 및 신장의 metallothionein

일정량의 폐, 간장, 및 신장 조직을 동일한 부피의 10mM Tris-HCl buffer(pH 7.4, 4 $^{\circ}$ C)로 균질화시키고 10,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다(4 $^{\circ}$ C 유지). 다음에 boiling water bath에서 2분간 가열하고 냉각시킨 후 10,000rpm에서 2분간 원심분리하여 상층액(cytosol)을 얻고(4 $^{\circ}$ C 유지) cytosol에 0.26mM CdCl₂ 용액을 첨가한 후 수분간 방치하여 metallothionein을 포화시켰다. 여기에 냉장보관하였던 RBC hemolysate를 첨가하고 95 $^{\circ}$ C boiling water bath에서 2분간 가열하고 냉각시켰다. 이후 10,000rpm에서 다시 2분간 원심분리하였다. 위의 열처리 원심분리를 1회 반복한다. 상층액을 취하여 카드뮴 농도를 원자흡광광도계(AA-680, Shimadzu)를 이용하여 분석하였다. 분석시 조건으로 건조는 150 $^{\circ}$ C에서 30초간, 가열은 300 $^{\circ}$ C에서 60초간, 그리고 원자화는 1950 $^{\circ}$ C에서 8초간으로 설정하였다. Metallothionein과 카드뮴의 몰비가 1:7임을 고려하여 조직내 metallothionein의 농도를 조직 g당 μg metallothionein으로 계산하였다²⁷⁾.

4) 혈액학적 분석

(1) Hematocrit의 측정

Hematocrit 수치의 측정은 헤파린 처리한 모세관 (Heparinized Micro Hematocrit tube 73810, Kimble)에 혈액을 넣어 원심 분리기(Micro Hematocrit Centrifuge HA200, Hanil) 12,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 전혈액량에 대한 packed linear scale로 측정하였다²⁸⁾.

(2) Hb, RBC, 및 WBC의 측정

Hb, RBC, 및 WBC은 자동혈구계산기(K1000, Sysmax Corporation)를 이용하였다.

5) 통계학적 분석

실험성적은 윈도우용 SPSS/PC + 8.0을 이용하여 분석하였고 평균 ± 표준편차로 요약하였다. 실험성적에 대한 그래프의 작성은 SigmaPlot 4.0을 이용하였다. 자료의 통계학적 유의성 검정은 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

결 과

1. 폐의 카드뮴 농도

정상군, 흡입노출 대조군을 포함한 처리군의 폐 시료에서 카드뮴을 분석한 결과와 95% 신뢰구간은 Table 2과 같다. 정상군의 폐내에서 카드뮴의 함량은 $0.08\mu\text{g/g}$ 이었고 처리군에서는 흡입노출 대조군에서 $64.82\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 처리군 III에서 $35.50\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮았다.

Table 2. Cadmium Content in Lung

Group	N	Lung, $\mu\text{g/g}$	95 % Confidence Interval
Normal	10	0.08 ± 0.00	0.07~ 0.08
Control	10	$64.82\pm 18.22a$	51.79~77.86
Treated I	10	38.69 ± 8.51	32.60~44.77
Treated II	10	36.32 ± 10.88	28.54~44.11
Treated III	10	35.50 ± 5.38	31.65~39.35
Total	50	35.08 ± 23.13	28.51~41.66

a p<0.05 by Duncan's multiple range test.

2. 사료섭취량, 체중증가량

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 식이 섭취량과 체중 증가량은 Table 3과 같다. 하루당 식이 섭취량은 정상군이 24.95g/day 이었고 처리군에서는 처리군 I에서 18.45g/day 으로 가장 높았고 처리군 III에서 16.57g/day 으로 가장 낮았다. 4주 동안의 체중증가량은 정상군이 195.84g/4 Weeks 으로 가장 높았고 처리군에서는 처리군 III에서 159.29g/4 Weeks 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 138.36g/4 Weeks 으로 가장 낮았다.

Table 3. Food Intake and Body Weight Gain

Group	N	Food Intake(g/day)	Body Weight Gain(g/4 Weeks)
Normal	10	24.95 ± 5.10	195.84 ± 38.10
Control	10	16.74 ± 2.64	138.36 ± 9.38
Treated I	10	18.45 ± 5.00	153.34 ± 40.43
Treated II	10	18.25 ± 5.23	159.00 ± 25.04
Treated III	10	16.57 ± 4.02	159.29 ± 28.14
Total	50	18.99 ± 5.32	161.17 ± 34.77

3. 폐, 간장, 및 신장의 무게

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 폐, 간장, 그리고 신장의 무게는 Table 4와 같다. 정상군의 폐 무게는 1.41g 이었고 처리군에서는 처리군 I에서 1.31g 으로 가장 높았고 처리군 II에서 1.09g 으로 가장 낮았다. 정상군의 간장 무게는 9.84g 이었고 처리군에서는 처리군 III에서 9.42g 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 8.37g 으로 가장 낮았다. 정상군의 신장의 무게는 2.39g 이었고 처리군 I에서 2.21g 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 1.74g 으로 가장 낮았다.

Table 4. Weight of Lung, Liver, and Kidney

Group	N	Lung, gram	Liver, gram	Kidney, gram
Normal	10	1.41 ± 0.19	9.84 ± 1.97	2.39 ± 0.33
Control	10	1.13 ± 0.13	8.37 ± 2.24	1.74 ± 0.27
Treated I	10	1.31 ± 0.27	9.39 ± 1.17	$2.21\pm 0.27a$
Treated II	10	1.09 ± 0.26	9.25 ± 0.76	1.99 ± 0.34
Treated III	10	1.24 ± 0.33	9.42 ± 1.23	1.85 ± 0.28
Total	50	1.23 ± 0.26	9.25 ± 1.58	2.03 ± 0.37

a p<0.05 by Duncan's multiple range test.

4. 혈액, 간장, 및 신장에서 카드뮴 농도

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 혈액, 간장, 그리고 신장 시료에서 카드뮴을 분석한 결과는 Table 5 및 Fig. 5와 같다. 정상군의 혈중 카드뮴 농도는 $0.22\mu\text{g/dl}$ 이었고 처리군에서는 흡입노출 대조군에서 $2.86\mu\text{g/dl}$ 으로 가장 높았고 처리군 II에서 $2.72\mu\text{g/dl}$ 으로 가장 낮았다. 정상군의 간장중 카드뮴 농도는 $0.02\mu\text{g/g}$ 이었고 처리군에서는 흡입노출 대조군에서 $30.84\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 처리군 I에서 $22.09\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮았다. 정상군의 신장중 카드뮴 농도는 $0.02\mu\text{g/g}$ 이었고 처리군에서는 흡입노출 대조군에서 $44.58\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았고 처리군 III에서 $24.82\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮았다.

Table 5. Cadmium Concentrations in Blood, Liver, and Kidney

Group	N	Blood($\mu\text{g/dl}$)	Liver($\mu\text{g/g}$)	Kidney($\mu\text{g/g}$)
Normal	10	0.22 ± 0.04	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
Control	10	2.86 ± 0.36	$30.84\pm 11.54a$	$44.58\pm 3.89a$
Treated I	10	2.76 ± 0.47	22.09 ± 4.13	27.33 ± 2.72
Treated II	10	2.72 ± 0.23	23.03 ± 3.42	26.39 ± 3.34
Treated III	10	2.76 ± 0.24	22.17 ± 3.51	24.82 ± 3.91
Total	50	2.26 ± 1.07	19.63 ± 11.87	24.63 ± 14.70

p<0.05 by Duncan's multiple range test

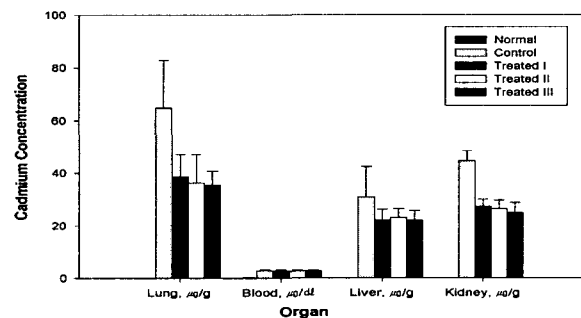


Fig. 5. Cadmium Concentration in Lung, Blood, Liver, and Kidney.

5. 소변 시료에서 주별 카드뮴 농도

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 소변과 대변 시료에서 카드뮴을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 처리군에서 주별 소변 중으로 배설되는 카드뮴의 농도를 비교해 보면 1주째는 처리군 III에서 0.87 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 0.64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮았다. 2주째는 처리군 III에서 1.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 0.65 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮았으며 3주째는 처리군 III에서 1.27 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 0.72 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮았다. 4주째는 처리군 III에서 1.35 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 0.76 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮았다.

4주간의 소변중 카드뮴 배설은 처리군 I, II, 그리고 III 모두에서 소변 중으로 배설되는 카드뮴의 농도가 증가하는 경향을 보였는데 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여량이 높은 군에서 소변 중으로 배설되는 카드뮴의 농도가 증가하는 경향이 뚜렷하였다.

Table 6. Cadmium Concentrations in Urines by the Week

Group	N	First, $\mu\text{g}/\text{ml}$	Second, $\mu\text{g}/\text{ml}$	Thir, $\mu\text{g}/\text{ml}$	Fourth, $\mu\text{g}/\text{ml}$
Normal	10	0.03 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01
Control	10	0.64 \pm 0.10	0.65 \pm 0.16	0.72 \pm 0.10	0.76 \pm 0.18
Treated I	10	0.83 \pm 0.19	1.05 \pm 0.26	1.06 \pm 0.38	1.18 \pm 0.20
Treated II	10	0.85 \pm 0.16	1.06 \pm 0.23	1.10 \pm 0.36	1.28 \pm 0.21
Treated III	10	0.87 \pm 0.10 ^a	1.08 \pm 0.27 ^a	1.27 \pm 0.37 ^a	1.35 \pm 0.28 ^a
Total	50	0.65 \pm 0.34	0.78 \pm 0.46	0.84 \pm 0.53	0.92 \pm 0.53

a p<0.05 by Duncan's multiple range test.

6. 대변 시료에서 주별 카드뮴 농도

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 대변 시료에서 카드뮴을 분석한 결과는 Table 7과 같다. 처리군에서 주별 대변 중으로 배설되는 카드뮴의 농도를 비교해 보면 1주째는 처리군 II에서 0.93 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 0.47 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 2주째는 처리군 I에서 1.11 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 0.30 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았으며 3주째는 처리군 II에서 1.09 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 0.53 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 4주째는 처리군 I에서 1.11 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 0.58 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 4주간의 자료에서 대변 중으로 배설되는 카드뮴의 농도가 시간이 지남에 따라 약하게 증가하는 경향을 보였으나 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여량 증가에 따라 대변 중으로 배설되는 카드뮴의 농도가 증가하는 경향은 나타나지 않았다.

Table 7. Cadmium Concentrations in Feces by the Week

Group	N	First, $\mu\text{g}/\text{g}$	Second, $\mu\text{g}/\text{g}$	Thir, $\mu\text{g}/\text{g}$	Fourth, $\mu\text{g}/\text{g}$
Normal	10	0.13 \pm 0.02	0.12 \pm 0.02	0.13 \pm 0.02	0.14 \pm 0.02
Control	10	0.47 \pm 0.22	0.30 \pm 0.12	0.53 \pm 0.19	0.58 \pm 0.15
Treated I	10	0.81 \pm 0.39	1.11 \pm 0.32 ^a	0.91 \pm 0.27	1.11 \pm 0.39 ^a
Treated II	10	0.93 \pm 0.21 ^a	0.96 \pm 0.34	1.09 \pm 0.17 ^a	1.03 \pm 0.28
Treated III	10	0.85 \pm 0.37	0.78 \pm 0.37	1.03 \pm 0.37	1.10 \pm 0.23
Total	50	0.64 \pm 0.40	0.65 \pm 0.46	0.74 \pm 0.43	0.79 \pm 0.45

a p<0.05 by Duncan's multiple range test.

7. 폐, 간장, 및 신장에서 metallothionein의 농도

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 폐, 간장, 그리고 신장에서 metallothionein을 분석한 결과는 Table 8 및 Fig 6과 같다. 폐에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 5.06 $\mu\text{g}/\text{g}$ 이었고 처리군에서는 처리군 III에서 31.85 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 21.73 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 간장에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 13.80 $\mu\text{g}/\text{g}$ 이었고 처리군에서는 처리군 III에서 205.77 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 111.21 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 신장에서 metallothionein의 농도는 정상군에서 12.02 $\mu\text{g}/\text{g}$ 이었고 처리군에서는 처리군 III에서 206.55 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 97.48 $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여량에 비례해서 폐와 간장에서 metallothionein의 농도가 비례적으로 증가하는 경향을 보였으나 신장에서는 이러한 경향이 약했다.

Table 8. Metallothionein Concentrations in Lung, Liver, and Kidney

Group	N	Lung, $\mu\text{g}/\text{g}$	Liver, $\mu\text{g}/\text{g}$	Kidney, $\mu\text{g}/\text{g}$
Normal	10	5.06 \pm 1.16	13.80 \pm 1.26	12.02 \pm 1.75
Control	10	21.73 \pm 7.14	111.21 \pm 24.60	97.48 \pm 44.66
Treated I	10	26.96 \pm 3.36	182.78 \pm 60.90	198.39 \pm 29.98
Treated II	10	30.22 \pm 4.54	198.40 \pm 49.80	150.64 \pm 61.12
Treated III	10	31.85 \pm 4.06 ^a	205.77 \pm 56.02 ^a	206.55 \pm 56.93 ^a
Total	50	23.16 \pm 10.69	142.39 \pm 84.80	133.01 \pm 84.25

a p<0.05 by Duncan's multiple range test.

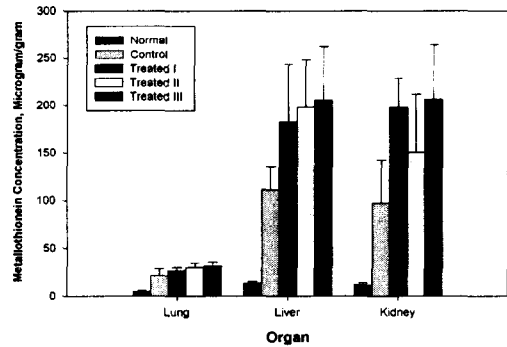


Fig. 6. Metallothionein Concentrations in Lung, Liver, and Kidney.

8. Hematocrit, Hb, RBC, 그리고 WBC 수치

정상군, 카드뮴 대조군을 포함한 처리군의 혈액에서 hematocrit, Hb, RBC, 그리고 WBC를 분석한 결과는 Table 9와 같다. 정상군의 hematocrit 수치는 43.27%이었고 처리군에서는 처리군 III에서 38.26%로 가장 높았고 처리군 I에서 36.67%로 가장 낮았다. 정상군의 Hb 수치는 13.29g/dl이었고 처리군에서는 처리군 III에서 11.63g/dl로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 9.59g/dl로 가장 낮았다. RBC 수치는 정상군에서 7.91 $\times 10^6/\text{mm}^3$ 이었고 처리군에서는 처리군 I에서 7.68 $\times 10^6/\text{mm}^3$ 로 가장 높았고 흡입노출 대조군에서 6.76 $\times 10^6/\text{mm}^3$ 으로 가장 낮았다. WBC 수치는 정상군에서 9.46 $\times 10^3/\text{mm}^3$ 이었고 처리군에서는 처리군 I에서 9.85 $\times 10^3/\text{mm}^3$ 로 가장 높았고 처리군 II에서 9.38 $\times 10^3/\text{mm}^3$ 로 가장 낮았다.

Table 9. Hematocrit(Hct), Hemoglobin(Hb), RBC, and WBC

Group	N	Hct(%)	Hb(g/dl)	RBC(10^9 /mm ³)	WBC(10^3 /mm ³)
Normal	10	43.27±7.61	13.29±2.28	7.91±1.06	9.46±0.93
Control	10	36.78±6.96	9.59±0.39	6.76±1.21	9.65±1.16
Treated I	10	36.67±9.63	11.06±1.66	7.68±1.02	9.85±1.90
Treated II	10	34.06±4.66	11.43±1.85	7.58±0.39	9.38±0.39
Treated III	10	38.26±9.38	11.63±1.93 ^a	7.57±0.83	9.50±2.85
Total	50	37.81±8.14	11.40±2.06	7.50±0.99	9.57±1.62

a p(0.05 by Duncan's multiple range test.

고찰

桑科(뽕나무과)에 속한 落葉喬木인 뽕나무(*Morus alba* Linne) 및 同屬近緣植物의 잎이 桑葉(*Folium Mori*)인데, 苦·甘·寒·하고 無毒하여 肺·肝에 歸經한다. 이명으로는 鐵扇子, 桑樹葉, 多桑葉이 있다. 疏散風熱·平肝明目·清肺止咳·涼血止血 등의 효능이 있어 外感風熱의 頭痛咳嗽, 肝陽亢盛的 頭暈, 目眩, 肝經實熱, 燥熱傷肺證, 血熱吐血 등의 병증을 치료한다. 桑葉의 한의학적 임상적용은 散風熱 또는 肺經의 泄熱作用이 있기 때문에 外感風熱로 인한 頭痛, 咳嗽 등의 병증을 다스리는데, 보통 甘菊, 連翹, 薄荷, 前胡, 桔梗 등을 배합하여 응용한다. 疏散風熱·清肝明目的 효능이 있기 때문에 風熱에 의하거나 또는 肝火上炎으로 인한 頭目昏眩, 目赤腫痛 등의 병증에 이용한다. 平肝明目的 작용이 있으므로 肝陽亢盛으로 인한 頭暈目眩, 頭痛頭瘡 등의 병증을 다스릴 때는 甘菊, 石決明, 白芍藥 등을 배합하여 응용하고 滋養肝腎작용이 있는 女貞子, 枸杞子, 黑芝麻 등을 배합하여 응용하기도 한다. 清肺止咳작용이 있으므로 燥熱傷肺로 인한 咳嗽, 咽乾 등의 병증을 다스리는데 이용하고 涼血止血 작용도 있어 血熱로 인한 吐血的 輕症에 대하여 기타의 涼血止血 약재를 배합하여 응용한다고 한다^{29,30}.

桑葉의 주성분은 ecdysterone, inokosterone, lupeol, β -sitosterol, rutin, moracetin, copper, zinc 등이고³⁰, 이중 구리와 아연은 in vivo에서 metallothionein을 유도하는 성질이 있다³¹. 현재까지 桑葉의 추출물에 대한 연구문헌은 저혈당증, 고혈압, 그리고 이뇨작용에 대한 것이 보고되고 있으며³² 카드뮴의 흡입 독성과 관련된 연구는 박재수 등에 의해 보고된 적이 있다²². 폐 흡수의 범위는 호흡을 통해 흡입된 카드뮴의 0.1%에서 50%이다^{33,34}. 흡수의 정도는 카드뮴 화합물의 입자 크기와 용해도에 의존한다. 폐 카드뮴의 피부 흡수에 대한 인체를 대상으로 한 자료는 없다. 건강한 성인에서 위장관 흡수의 범위는 섭취된 카드뮴의 3~7%이다. 이 범위는 칼슘, 철, 또는 단백질 영양결핍에 따라 높게는 20%까지 증가한다³⁴. Massaro의 방법으로³⁵ 폐에 대한 흡입투여량(inhaled dose)과 침착된 양(deposited dose)의 예측은 강성호 등²¹의 연구에서는 각각 1.129mg과 0.023mg이었고 박재수 등²²의 연구에서는 각각 흡입투여량(inhaled dose)은 1.175mg이었고 폐에 침착된 양(deposited dose)은 0.107mg이었다. 본 연구에서 예측된 흡입투여량(inhaled dose)은 1.106mg이었고 예측에 의한 폐에 침착된 양(deposited dose)은 0.075mg이었다. 랫드가 흡입노출되는 공기중 카드뮴 에어로졸의 농도만을 고려하면

수치적인 차이는 없었지만 예측된 흡입투여량과 폐에 침착된 양 사이에는 약간의 수치적인 차이가 있었다. 흡입투여량의 경우 강성호 등²¹의 연구가 본 연구보다 1.02배 높았고 박재수 등²²의 연구는 본 연구보다 1.15배 높았다. 카드뮴 에어로졸의 질량중위수 입경을 고려한 폐에 침착된 양은 본 연구가 강성호 등²¹의 연구보다 3.26배 높았고 박재수 등²²의 연구가 본 연구보다 1.43배 높았다. 폐에 침착된 양에 차이가 있는 것은 질량중위수 입경이 강성호 등²¹의 연구에서는 4.93 μ m, 박재수 등²²의 연구에는 1.40 μ m, 그리고 본 연구에서는 2.40 μ m로 차이가 있었고 이로 인해 폐에 침착되는 비율에 차이가 있기 때문이다. 그러나, 폐 시료의 카드뮴 농도를 비교했을 때, 본 연구보다 박재수 등²²의 연구가 2.88배, 강성호 등²¹의 연구가 1.43배로 높았다. 이러한 연구결과를 고려해 볼 때, 桑葉 ethyl acetate 추출물이 폐에서 카드뮴의 제거 이전에 작용을 하는 것으로 생각된다. 혈액과 조직내의 카드뮴 농도를 처리군을 기준으로 비교해 보면 혈액에서는 본 연구가 강성호 등²¹의 연구보다 1.28배 높았고 박재수 등²²의 연구가 본 연구보다 2.61배 높았다. 간장에서는 본 연구보다 강성호 등²¹의 연구가 1.08배 높았고 박재수 등²²의 연구가 본 연구보다 1.82배 높았다. 신장에서는 본 연구가 강성호 등²¹의 연구보다 11.12배 높았고 박재수 등²²의 연구가 본 연구보다 2.72배 높았다. 폐, 간장, 그리고 신장 조직내의 metallothionein 농도를 처리군을 기준으로 비교해 보면 폐에서는 본 연구가 강성호 등²¹의 연구보다 1.14배 높았고 박재수 등²²의 연구가 본 연구보다 2.37배 높았다. 간장에서는 본 연구가 강성호 등²¹의 연구보다 1.54배 높았고 박재수 등²²의 연구가 본 연구보다 1.84배 높았다. 신장에서는 본 연구가 강성호 등²¹의 연구보다 17.35배 높았고 박재수 등²²의 연구가 본 연구보다 1.21배 높았다. 강성호 등²¹, 박재수 등²²의 연구와 본 연구결과를 흡입노출 대조군과 처리군으로 나누어 비교할 때 본 연구에서는 흡입노출 대조군에 비해 桑葉 ethyl acetate 추출물을 투여한 처리군의 폐, 간장, 그리고 신장의 metallothionein은 모두 증가하였고 간장과 신장에서의 증가 수치가 폐의 metallothionein 증가 수치보다 높았다. 이러한 경향성은 박재수 등²²의 연구에서도 나타났다. 폐, 간장, 신장, 그리고 혈액에서 카드뮴 농도는 흡입노출 대조군에 비해 桑葉 ethyl acetate 추출물을 투여한 처리군의 폐, 간장, 그리고 신장의 카드뮴 농도가 낮았다. 桑葉 ethyl acetate 추출물을 투여는 폐, 간장, 신장, 그리고 혈액에서 카드뮴의 제거 이전에 영향을 주는 것으로 생각된다. 강성호 등²¹의 연구에서는 폐, 간장, 신장, 혈액 순으로 높았고 박재수 등²²의 연구에서는 폐, 신장, 간장, 혈액 순으로 높았으며 본 연구에서는 폐, 간장, 신장, 혈액 순으로 높았다. 이러한 연구결과를 볼 때, 추출물에 따라서 카드뮴의 제거에 작용하는 이전에 다소 차이가 있을 것으로 생각된다. 카드뮴에 대한 흡입노출과 독성에 대한 연구는 Yoshikawa 등³⁶에 의해서 일부 수행되었기 때문에 비교할 수 있는 자료는 많지 않다. 그의 연구에서는 흰쥐를 1일 6시간, 12주(3개월) 동안 공기중 카드뮴 흡 농도 0.1mg/m³과 1mg/m³에 흡입노출되게 하였다. 1.0mg/m³에 흡입노출된 흰쥐 10마리중 3마리는 연구시작 시점에서 46-49일째되는 날 죽었고 0.1mg/m³에 흡입노출된 흰쥐에서는 사망이 없었고

대조군과 유사한 체중의 증가를 보였다. 그러나, 2주 동안의 흡입노출 후 0.1mg/m' 그리고 1.0mg/m'에 흡입노출된 흰쥐의 폐 무게에서 증가가 있었다. 폐의 병리학적 소견의 관점에서, 3개월 흡입 노출 후 1.0mg/m' 흰쥐에서 폐 섬유화 그리고 1단계 기종이 관찰되었고 0.1mg/m'에 흡입노출된 흰쥐에서는 더 완만하게 나타났다. 양자의 흰쥐에서 대조군과 비교해 체중의 증가 그리고 RBC, Hb, hematocrit 수치의 변화는 없었다고 한다. 본 연구에서는 카드뮴 농도 0.96mg/m' 그리고 질량중위수입경 2.45 μ m에서 하루 6시간 4주간 흡입노출 동안에 죽은 흰쥐는 없었고 폐의 섬유화, 기종도 관찰되지 않았다. 카드뮴 공급시 식이섭취량을 감소시키고 체중증가에 감소를 가져온다는 여러 보고가 있었으나^{33,34)} 본 연구에서 식이섭취량은 정상군에 비해 유의하게 감소하였으나 흡입노출 대조군과 처리군의 비교에서는 유의한 증가가 없었다. 이와 더불어 체중증가량이 정상군에 비해 유의하게 감소하였으나 흡입노출 대조군과 처리군의 비교에서는 유의한 증가가 없었다. Yoshikawa 등³⁶⁾의 연구에서는 체중증가량에 차이가 없었다는 것과 다른 결과를 얻었다. 정상군에 비해 처리군에서 체중증가량이 감소된 것은 감소된 식이섭취량에 기인한 것으로 생각되며 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여는 식이섭취량과 체중증가량에 영향을 주는 것으로 생각된다. Hct, RBC, WBC 수치는 정상군에 비해 감소가 있었으나 유의성은 없었다. 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여는 카드뮴 에어로졸 흡입노출에 의해 영향을 받는 혈액학적 측정인자인 Hct, RBC, WBC에 영향을 주지 못하는 것으로 생각된다. 본 연구에서도 Yoshikawa 등³⁶⁾의 연구에서와 같이 RBC의 수치에는 정상군과 차이가 없었다. Yoshikawa 등³⁶⁾의 연구와 본 연구는 결과에 있어 많은 차이가 있었다. 첫 번째는 폐의 병리학적 소견에 대한 것인데 흡은 연소, 승화, 응결과 같은 기전에서 생성되는 미세한 입자상 물질이며 입자의 크기 범위는 0.001-1.0 μ m로 Yoshikawa 등³⁶⁾의 연구에서는 입자의 크기를 규정하지 않았지만 본 연구에서의 입자의 크기 보다 작았다. 입자의 크기가 크다는 것은 폐에 침착될 수 있는 양이 더 작다는 것을 의미하며 폐를 통한 체내로의 흡수가 낮다는 것을 의미한다. Snyder³⁷⁾에 의하면 흰쥐에서 1 μ m와 5 μ m의 입자크기를 비교할 때 폐에 침착되는 비율은 1 μ m가 5배 높다고 한다. Yoshikawa 등³⁶⁾의 연구에서 폐의 섬유화와 기종이 관찰된 것은 입자의 크기가 작은 흡을 이용하였고 흡입노출시 폐에 많은 침착이 있었고 체내로의 흡수가 많았다는데 기인한다고 할 수 있다. 따라서 카드뮴에 흡입노출이 되더라도 입자의 크기에 따라서 나타날 수 있는 생리학적, 병리학적 반응은 다를 수 있다는 것을 알 수 있고 카드뮴 에어로졸의 흡입노출 실험에서 입자의 크기 즉 질량중위수직경을 규정한다는 것은 아주 중요함을 알 수 있다. 두 번째는 혈액학적 소견에서의 차이인데 이는 Yoshikawa 등³⁶⁾에서는 용해성이 낮은 금속 카드뮴 흡에 흰쥐를 흡입노출시켰고 본 연구에서는 용해성이 높은 염화 카드뮴을 흡입노출시킨데 그 원인이 있는 것으로 생각되며 카드뮴 에어로졸의 입자크기가 동일하다면 염화 카드뮴의 높은 용해성으로 인해 폐에 침착되고 난후 체내에 더 많은 양이 흡수되었을 것으로 추정된다. Rusch 등³⁸⁾ 그리고 Tsuchiya³⁹⁾은 입자의 크기이외에도

물질의 용해성이 독성을 결정하는 중요한 요인이라고 한다. 카드뮴에 의해 유발되는 빈혈은 카드뮴이 혈장 transferrin 그리고 간의 ferritin과 결합하여 철의 흡수와 체내 철의 이용을 방해함으로써 RBC 크기가 감소되고 Hb 농도가 감소되는 microcytic hypochromic anemia이다. 본 연구에서는 혈액학적 요소중 카드뮴 독성에 대한 지표중 하나인 빈혈을 관찰하기 위해 Hct, Hb, RBC, WBC를 측정하고 결과 처리군 I, II, 그리고 III의 Hct 수치는 흰쥐의 정상범위인 44.4-50.4%에 미치지 못하여 카드뮴으로 인한 철분대사에 이상이 있었다. 실험동물의 조직에서 카드뮴 축적량의 50-80%가 간장과 신장에 분포되기 때문에 카드뮴 중독에 가장 많은 영향을 받는 장기는 간장과 신장인데 이들의 무게가 카드뮴 공급에 의해 감소한다는 보고가 있다⁴⁰⁾. 본 연구에서는 신장의 무게만이 정상군에 비해 처리군 모두에서 유의하게 감소하였고 이는 박재수 등²²⁾, 류정미와 김미경⁴¹⁾의 연구결과와도 유사하였다. 그러나 폐의 무게는 정상군에 비해 수치적으로는 감소하였으나 유의성은 없었다. 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여가 폐와 신장의 무게에는 영향을 간장의 무게에는 영향을 주지 못한 것으로 생각된다. 혈액내의 카드뮴 함량이 상대적으로 낮은 것 폐에서 혈류로의 이동이 느리고 일단 혈류로 들어온 카드뮴이 간장과 신장으로 분포되고 최종적으로는 대부분은 소변을 통해서 그리고 일부는 대변을 통해서 배설되었기 때문인 것으로 생각된다. 간장은 카드뮴의 노출경로에 관계없이 체내에서 카드뮴 축적이 가장 높은 기관으로 카드뮴에 의해 가장 독성을 나타내기 쉽다고 하였으나⁴²⁾ 본 연구에서는 간장보다는 신장에서의 카드뮴 농도가 더 높았는데 이는 Yoshikawa 등³⁶⁾ 그리고 박재수 등²²⁾의 연구와 유사하였다. 본 연구에서는 桑葉 물 추출물의 투여가 카드뮴 에어로졸에 흡입노출된 흰쥐의 간장과 신장에서 metallothionein의 생성 및 제거기전에 많은 영향을 준 것으로 생각된다. 카드뮴 흡입노출과 시엽 추출물의 영향을 연구한 강성호 등²¹⁾의 연구에서는 신장의 카드뮴 농도가 간장에 비해 높지 않았으며 이는 카드뮴의 흡입노출로 인해 체내로 흡수된 카드뮴의 양이 신장에서 수용할 수 있는 양을 초과했기 때문에 간장은 카드뮴을 저장하는 역할을 한 것으로 생각한다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 박재수 등²²⁾의 연구에서와 같이 이러한 현상이 나타나지 않았는데 이는 혈류를 통해 신장으로 공급되는 카드뮴의 양이 신장이 수용할 수 있는 양을 초과하여 신장기능에 손상을 준 것 때문으로 생각된다.

본 연구에서는 카드뮴 에어로졸 흡입노출로 인한 독성저하의 직접적인 지표인 metallothionein의 농도는 폐, 간장, 그리고 신장에서 모두 흡입노출 대조군과 처리군 I, II, III과의 비교시 유의하게 증가하였는데 이는 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여에 의한 영향으로 생각된다. 폐의 metallothionein 함량은 간장과 신장의 metallothionein 함량에 비해 상대적으로 낮은 양이었으나 흡입노출 대조군 그리고 처리군 I, II, III과 비교시 유의한 차이가 있었는데 이는 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여가 폐내에 침착된 카드뮴에 의한 metallothionein의 생성 및 침착되어 있는 카드뮴의 제거기전에 영향을 준 것으로 생각된다. 이러한 것을 고려해 볼 때 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여는 카드뮴에 대한

metallothionein 중재에 의한 cytosol에서 카드뮴의 격리와 제거하는 능력에 영향을 주는 것으로 생각되고^{43,44} 그것에 의해서 카드뮴에 대한 중독으로 부터 독성을 저하시키고 카드뮴 에어로졸이 침착되어 체내로 흡수되는 폐, 그리고 표적장기인 간장과 신장에서 카드뮴의 제거에 기여하는 것으로 생각된다. 카드뮴 유발 독성에 대한 방어기전에서 metallothionein의 이러한 기능 때문에 조직에서 높은 metallothionein 농도는 동물에게 명백하게 생리학적 이점이 있을 수 있다⁴³. 소변을 통한 카드뮴의 배설은 시간이 지남에 따라 처리군 I, II, 그리고 III에서는 증가하는 경향이 있었다. 대변을 통한 카드뮴의 배설은 시간이 지남에 따라 처리군 I, II, 그리고 III에서는 서서히 증가하는 경향이 있었고 흡입 노출 대조군에서 이러한 경향을 볼 수 없었다. 소변을 통한 카드뮴의 배설은 박재수 등²², 강성호 등²¹의 연구와 유사하였으나 대변을 통한 카드뮴의 배설은 박재수 등²²의 연구와는 유사하였으나 강성호 등²¹의 연구와는 다소 다른 양상을 나타내었다. 카드뮴 흡입노출의 초기에, 공기중 카드뮴 입자의 섭취와 이로 인한 장으로의 흡수가 많지 않기 때문에, 대변을 통한 배설은 제거의 주요한 경로이나 소량의 답즙을 통한 제거(biliary excretion)은 구강 흡수후에 간장에서 전신순환으로 들어가기 전에 이루어진다고 한다. 일단 전신순환을 하게되면, 대변과 소변을 통한 배설은 대략 동일하게 된다고 하는데^{46,47} 본 연구에서도 약간 이러한 경향성을 볼 수는 있었으나 뚜렷하지는 않았는데 이는 본 연구가 카드뮴 에어로졸의 흡입을 통한 노출이기 때문에 대변을 통한 카드뮴의 전체 제거량 보다는 소변을 통한 카드뮴의 제거가 지배적이었기 때문인 것으로 생각된다.

본 연구에서 카드뮴 에어로졸에 흡입노출된 흰쥐에 대해 桑葉 ethyl acetate 추출물을 투여한 결과 조직내 카드뮴 농도의 관점에서 폐, 신장, 간장, 그리고 혈액에서 카드뮴의 제거에 영향을 주었고 metallothionein의 관점에서 간장, 신장, 그리고 폐에서 카드뮴으로 인한 독성의 완화에 영향을 준 것으로 생각된다. 그리고 체중증가량과 식이섭취량에도 영향을 주었고 혈액의 Hb의 수치에도 영향을 주었다. 현재까지 카드뮴 중독은 효과적으로 치료하기가 어렵고. 명확하게 도움이 된다고 증명되지 않았지만, CaNa₂EDTA의 킬레이트 요법이 추천되어왔으며 Dimercaprol은 신장 독성을 증가시키기 때문에 주의하여 사용할 것을 권고하고 있다. 실험동물에서 CaNa₂EDTA와 CaNa₂DTPA 같은 다탄산킬레이트제(polycarboxylic acid chelator)가 카드뮴에 노출된 후 즉시 투여되었을 때 효과적일 수 있다는 보고가 있으나¹⁸ 불행하게도 킬레이트제가 도달하지 못한 부분은 빨리 분포되기 때문에 킬레이트 요법은 시간이 경과함에 따라 급속히 효과가 떨어진다고 한다⁴⁸. 그렇기 때문에 킬레이트제의 투여는 급속히 노출된 후 가능한 빨리 실행되어야 한다¹⁹. 세계보건기구에서는 직업적 카드뮴 중독에 대해 특별한 의학적 치료방안이 없다고 하여 의학적, 공학적 예방조치의 중요성을 강조하고 있다²⁰.

본 연구에서 桑葉 ethyl acetate 추출물의 투여결과 카드뮴 에어로졸 흡입노출에서 흰쥐의 카드뮴에 대한 간장, 신장, 그리고 폐의 독성완화시키고 및 제거에 영향을 주었으며 이에 대한 정확한 기전에 대해서는 추가의 연구를 필요로 한다.

결론

카드뮴의 흡입독성과 桑葉 추출물의 영향을 연구하고자 흰쥐 흡입폭로 대조군과 처리군은 1일 6시간, 1주일에 5회, 그리고 4주간 공기중 카드뮴 에어로졸에 흡입노출시켰다. 카드뮴 에어로졸의 공기중 농도는 0.96mg/m³, 질량중위수입경은 2.48 μ m, 그리고 기하표준편차는 1.85이었고 각각의 처리군에 대한 桑葉 추출물의 복용투여 결과는 다음과 같다.

체중증가량과 식이섭취량은 처리군 III에서 159.29g/4 weeks와 처리군 I에서 18.45g/day로 가장 높았다. 폐의 무게는 처리군 I에서 1.31g, 간장의 무게는 처리군 III에서 9.42g, 그리고 신장의 무게는 처리군 I에서 2.21g으로 가장 높았다. 폐에서 카드뮴 함량은 처리군 III에서 35.50 μ g/g으로 가장 낮았고 혈중 카드뮴 농도는 처리군 II에서 2.72 μ g/dl로 가장 낮았다. 간장에서 카드뮴 농도는 처리군 I에서 22.09 μ g/g으로 가장 낮았고 신장에서 카드뮴 농도는 처리군 III에서 24.82 μ g/g으로 가장 낮았다. 주별 소변중 카드뮴 농도는 4주째 처리군 III에서 1.35 μ g/ml로 가장 높았고 주별 대변중 카드뮴 농도는 2주, 4주째 처리군 I에서 1.11 μ g/g으로 가장 높았다. 폐의 metallothionein 농도는 처리군 III에서 31.85 μ g/g로 가장 높았다. 간장의 metallothionein 농도는 처리군 III에서 205.77 μ g/g으로 가장 높았고 신장에서 metallothionein 농도는 처리군 III에서 206.55 μ g/g으로 가장 높았다. Hct 수치는 처리군 III에서 38.26%로 가장 높았고 Hb 수치는 처리군 III에서 11.63g/dl로 가장 높았다. RBC 수치는 처리군 I에서 7.68 $\times 10^6$ /mm³으로 가장 높았고 WBC 수치는 처리군 I에서 9.85 $\times 10^3$ /mm³으로 가장 높았다.

감사의 글

이 논문은 두뇌한국(Brain Korea: BK) 21사업에 의해 수행되었으며 이에 감사한다.

참고문헌

1. Beliles, R.P.: The metals. In: Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, edited by G. D. Clayton and F. E. Oayton. John Wiley and Sons, New York. pp.1879-2352, 1994.
2. Beton, D.C., Andrews, G.S., Davies, H.J., et al.: Acute cadmium fume poisoning: Five cases with one death from renal necrosis. Br. J. Ind. Med., 23:292-301, 1966.
3. Blanc, P., Boushey, H.A.: The lung in metal fume fever. Semin. Resp. Med., 14:212-225, 1993.
4. Blejer, H.P.: Death due to cadmium oxide fumes. Ind. Med. Surg., 35:363-364, 1966.
5. Dunphy, B.: Acute occupational cadmium critical review of the literature. J. Occup. Med., 9:22-26, 1967.
6. Lucas, P.A., Jariwalla, A.G., Jones, J.H., Gough, J.: Fatal cadmium fume poisoning. Lancet, 2(8187):205, 1980.

7. Barret, H.M., and Card, B.Y.: Studies on the toxicity of inhaled cadmium. II. The acute lethal dose cadmium oxide for man. *J. Ind. Hyg.Toxicol.*, 29:285-293, 1947.
8. Bulmer, F.M.R., Rothwell, N.F., Frankish, E.R.: Industrial cadmium poisoning, a report of fifteen cases, including two deaths. *Can. Public Health J.*, 29:19-26, 1938.
9. Barnhart, S. and Rosenstock, L. Cadmium chemical pneumonitis. *Chest*, 86:789-791, 1984.
10. Davison, A.G., Fayers, P.M., Taylor, A.J.: Cadmium fume inhalation and emphysema. *Lancet*, 1(8587):663-667, 1988.
11. Townshend, R.H.: Acute cadmium pneumonitis: A follow-up. *Br. J. Ind. Med.*, 39:411-412, 1982.
12. Samarawickrama, G.P.: Biological Effects of Cadmium in Mammals. Chapter 9. In *Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium*, edited by M. Webb. New York: Elsevier/NorthHolland Biomedical Press, pp. 341-421, 1979.
13. Friberg, L., Kjellstrom, T., and Nordberg, G.: Cadmium. *Handbook on the Toxicology of Metals*, pp. 130-184. L. Friberg, G.F. Nordberg, and V. Vouk, Eds. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, New York, 1986.
14. Roels, H.A., Lauwerys, R.R., Bucket, J.P., Bernard, A., Chettle, D.C., Harvey, T.C. and Al-Haddad, I.K.: In vivo Measurement of Liver and Kidney Cadmium in Worker Exposed to This Metal: Its Significance with Respect to Cadmium in Blood and Urine. *Environ. Res.*, 26:217-240, 1981.
15. Lauwery, R.R., Roels, H.A., Buchet, J.P., Bernard, A. and Stanescu, D. : Investigations on the Lung and Kidney Function in Workers Exposed to Cadmium. *Environ. Health Perspect.*, 28:137-145, 1979.
16. Patwardhan, J.R. and Finckh, E.S. : Fatal Cadmium-Fume Pneumonitis. *Med. J. Austral.* 1:962-966, 1976.
17. Beton, D. C., Andrews, G. S., Davies, H. J., et al: Acute cadmium fume poisoning; five cases with one death from renal necrosis. *Br. J. Ind. Med.*, 23:292, 1966.
18. Cantilena, L.R., Klaasssen, C.D.: Decreased effectiveness of chelation therapy for Cd poisoning with time. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 63, 173-180, 1982.
19. Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W., and Murad, F.: Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 7th Ed., pp.1664-1665, Macmillan Publishing Company, New York, 1985.
20. WHO: Cadmium, *Environmental Health Criteria 134*, Int. Prog. Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, 1992.
21. 강성호, 천병렬, 김상덕, 송용선, 이기남, 정재열: 柿葉 추출물이 카드뮴에 흡입폭로된 랫드의 독성에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*. 16(1):78-88, 2002.
22. 박재수, 정재열, 이택준, 강성호, 송용선, 이기남: 桑葉 추출물이 흰쥐의 카드뮴 에어로졸 흡입독성에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*. 16(6):1243-1252, 2002.
23. 정재열, 도날드 밀턴, 김태형, 이종영, 장두섭, 강성호, 송용선, 이기남: 카드뮴 흡입독성연구를 위해 설계된 에어로졸 발생장치에서 발생한 카드뮴 에어로졸의 입경분석. *동의생리병리학회지*. 16(5):1035-1041, 2002.
24. Hinds, W. C.: *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*. pp.392-394, John Wiley and Sons, New York. 1982.
25. NIOSH: *Manual of Analytical Methods*, 2nd ed., V. 7, P&CAM 173, U.S. Department of Health and Human Services, 1979.
26. Eller, P.M.: Method 8005 NIOSH *Manual of Analytical Methods(NMAM)*, Fourth Edition. NIOSH, pp. 1-6, 1987.
27. Eaton, D.L., Cherian, M.G.: Determination of metallothionein in tissue by cadmium-hemoglobin assay. *Methods Enzymol.*, 205:83-8, 1991.
28. Norbert, W.: *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 2nd ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1976.
29. 신민교: *임상 본초학*. 영림사, pp 245-246., 1997.
30. Bensky, D. and Gamble, A. *Chinese Herbal Medicine Materia Medica*. Eastland Press, p.43, 1993.
31. Lauwerys, R.R., Hoet, P.: *Industrial Chemical Exposure: Guidelines for Biological Monitoring*. 2nd Edition. Lewis Publishers. Ann Arbor. p.p.32-36, 1993.
32. Kelkar, S.M., Bapat, V.A., Ganapati, T.R., Kaklij, G.S., Rao, P.S.: Determination of hypoglycemic activity in *Morus indica* Mulberry shoot cultures. *Curr Sci* 71:71-72., 1996.
33. Nordberg, G.F., Kjellstrom T., Nordberg, M.: Kinetics and Metabolism. In: *Cadmium and Health*. L. Friberg, et al., Eds. CRC Press, Boca Raton, FL, 1985.
34. Nordberg, G.F., Nordberg, M.: Biological Monitoring of Cadmium. In: *Biological Monitoring of Toxic Metals*, pp. 151-168, T.W. Clarkson, et al., Eds. Plenum Press, New York, 1988.
35. Massaro, E.J.: *Handbook of Human Toxicology*. CRC Press. New York. pp.528-540, 1997.
36. Yoshikawa, H., Kawai, K., Suzuki, Y., Nozaki, K., and Ohsawa, M.: Studies on cadmium effects in living organisms-impairment due to inhalation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 34:517, 1975.
37. Snyder, W.S.: International Commission on Radiological Protection, No. 23: Report of the Task Group on Reference Man, Pergamon Press, Oxford, 1975.
38. Rusch, G.M., O'Grodnick, J.S., and Rinehart, W.zE.: Acute Inhalation Study in the Rat of Comparative Uptake, Distribution and Excretion for Different Cadmium Containing Materials *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 47(12):

- 754-763, 1986.
39. Tsuchiya, K. : Cadmium Studies in Japan: A Review. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. New York, pp.45-128, 1978.
 40. Faeder, E.J, Chaney, S.W., King, L.C., Hinners, T.A., Bruce, R., Fowler, B.A.: Biochemical and ultrastructural change in livers of cadmium-treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 39:473-487, 1977.
 41. 류정미, 김미경: 식이내 Cysteine 수준이 흰쥐의 카드뮴과 납 중독에 미치는 영향. *한국영양학회지*, 29(6):597-607, 1996.
 42. Frazier, J.M., Puglese, J.: Dose dependence of cadmium kinetics in the rat liver following intravenous injection. *Toxicol Appl Pharmacol*, 43:461-474, 1978.
 43. Choudhuri, S., McKim, Jr. J. M. and Klaassen, C.D.: Differential expression of the metallothionein gene in liver and brain of mice and rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 119:1-10, 1993.
 44. Choudhuri, S., W. L. Liu, N. E. J. Berman, C. D. Klaassen : Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stage of development. *Toxicol. Lett.*, 84:127-33, 1996.
 45. Sendelbach, L.E. and Klaassen, C.D.: Kidney synthesizes less metallothionein than liver in response to cadmium chloride and cadmium metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 92-95, 1988.
 46. Taylor, J. and Ennever, F.K.: Toxicological Profile for Cadmium. Atlanta, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, United States Public Health Service, 1993.
 47. IARC: Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human: Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposures in the Glass Manufacturing Industry, Volume 58. Geneva, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, pp.119-237, 1993.
 48. Waalkes, M.P., Watkins, J.B., and Klaassen, C.D. Minimal role of metallothionein in decreased chelator efficiency for cadmium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 68:392-398, 1983.