

## 유기수은 노출로 인한 흰쥐 태자골격성장 지연에 대한 마늘의 보호효과

이진현<sup>†</sup> · 박경렬\* · 김대선\*\*

공주대학교 사범대학 환경교육과, \*우송정보대학 병원행정과, \*\*국립환경과학원 환경역학과  
(2008. 3. 8. 접수/2008. 4. 18. 채택)

### Protective Effects of Korean Garlic Juice against the Toxicity of Methyl Mercuric Chloride (MMC) in Relation to Fetal Ossification in Pregnant Fischer-344 Rats

Jin-Heon Lee<sup>†</sup> · Kyung Lyoul Park\* · Dae Seon Kim\*\*

Department of Environmental Education, Teacher's College, Kongju National University

\*Department of Hospital Administration, Woosong Information College

\*\*Division of Environmental Epidemiology, National Institute of Environmental Research

(Received March 8, 2008/Accepted April 18, 2008)

#### ABSTRACT

This study evaluates the protective effects of Korean garlic juice against the toxicity of methyl mercuric chloride (MMC) in relation to fetal ossification in pregnant Fischer 344 rats. This study has as its basis, both theory and data that neutral amino acids in garlic juice have protective effects against mercury poisoning. Pregnant rats were dosed in various combination with 20 mg MMC/kg body wt. and 0.5 or 1.0 garlic juice/kg body wt. on the 7th day of gestation. Fetuses were extracted from the dams on 20th day of gestation, and the fetal bones were stained and measured. The results obtained are as follows: 1. Fetal body weights, body lengths, and head length were significantly decreased by as much as 23.5%, 21.3%, 15.5% respectively in 20 mg/wt-kilogram methyl mercuric chloride groups ( $p < 0.05$ ). But in the garlic treated groups, they were almost similar to the controls. 2. The ossification centers were significantly decreased by as much as 35.1% in pelvic phalanges, 53.5% in pectoral phalanges, 74.1% in ternebrae, 76.2% in tail in 20 mg/wt-kilogram methyl mercuric chloride groups ( $p < 0.05$ ). But in the garlic treated groups, they were significantly increased by as much as 81.2~88.7% and 94.8~98.9% of controls. 3. The ossified pectoral girdles were significantly decreased by as much as 66.6% in clavicle, and in other areas 74.2~87.4% in the 20 mg/wt-kilogram methyl mercuric chloride groups ( $p < 0.05$ ). But in the garlic treated groups, they were significantly increased by as much as 81.2~88.7% and 94.8~98.9% of controls. 4. The ossified pelvic girdles were significantly decreased by as much as 57.1% and 56.1% in two ischium, 67.2~81.7% in metacarpals in the 20 mg/wt-kilogram methyl mercuric chloride groups ( $p < 0.05$ ). But in the garlic treated groups, they were significantly increased by as much as 67.0~85.6% and 90.1~98.7% of controls. 5. The ossified ternebrae were unchanged or significantly decreased; 0.0% in 5th, 54.1% in 1st, 83.9% in 2nd, 75.0% in 3rd, 72.7% in 4th, 79.8% in 6th of 20 mg/wt-kilogram methyl mercuric chloride groups ( $p < 0.05$ ). But in the garlic treated groups, they were significantly increased by as much as 29.5~55.1% and 54.5~84.0% of controls. 6. The ossified ribs were significantly decreased by as much as 8.3~18.0% in 20 mg/wt-kilogram methyl mercuric chloride groups ( $p < 0.05$ ). But in the garlic treated groups, they were significantly increased by as much as 87.1~93.5% and 96.3~99.7% of controls. In conclusion, Korean garlic juice significantly protected against the toxicity of MMC in relation to the fetal ossification in pregnant rats.

**Keywords:** methyl mercuric chloride(MMC), garlic juice, ossification

#### I. 서 론

수은이 임신된 모체 내에 노출되면 수은이 태반을 침

계 통과하기 때문에 태자에 많은 양의 수은이 축적되고, 성염색체 분열을 저해하여 유전물질에 이상을 일으키며, 태자에 영향을 주어 뇌기능 마비, 기형아 출산, 사산 등이 초래된다.<sup>1,4)</sup> 더욱이 태자가 수은에 대한 "sink" 역할을 하기 때문에 동일한 양의 수은에 폭로되었을 경우, 임신하지 않은 흰쥐의 모체보다 임신한 백서의 모체의 수은중독이 경미하다고 보고하였다.<sup>5)</sup>

<sup>†</sup>Corresponding author : Department of Environmental Education, Teacher's College, Kongju National University  
Tel: 82-41-850-8814, Fax: 82-41-850-8816  
E-mail : ejhl@kongju.ac.kr

이런 이유로 임신부가 수은에 폭로되었을 경우에 수은중독 증상이 미미하게 나타났는데도 불구하고 태자에게 수은이 높은 양으로 축적되어 사산 및 기형아로 출산될 위험성이 있음을 알 수 있다.<sup>6,9)</sup> 이<sup>4)</sup>의 연구결과에서 모체의 뇌와 간장에서보다 태자의 그곳에서 수은 농도가 1.5~2.5배 높게 나타났다고 보고하였다.

따라서 수은의 노출에 의한 중독증상을 감소시키기 위한 연구가 활발하게 진행되어왔다. 수은에 중독되면 납에 중독된 경우에서와 같이 dimer-captopropanol (BAL)과 N-acetyl-D,L-penicillamine(NAP) 등과 같은 킬레이트제를 투여하면 체내에 축적된 수은의 배설을 촉진하였고,<sup>10)</sup> 아연, 셀레늄과 같이 체내의 필수미량원소, 비타민 E와 같은 영양물질을 투여하면 이들이 수은과 상호작용함으로써 수은중독이 감소된다고 보고하였다.<sup>5,6)</sup> 또한 수은이 각종 효소중의 -SH기와 우선적으로 결합하여 표적장기로 이동할 뿐만 아니라 단백질합성에 관여하는 효소의 기능을 저해함으로써 단백질합성을 방해한다고 보고됨<sup>11,12)</sup>에 따라 -SH기를 함유하고 있는 각종 아미노산과 화합물을 투여하여 수은을 투여한 아미노산과 화합물의 -SH기에 경쟁적으로 결합시키므로써 수은중독으로 인한 단백질 저해작용에 대해 보호 효과가 있다고 보고하였으며,<sup>13)</sup> 이러한 사실을 근거로 -SH기가 풍부하다고 밝혀진 마늘을 수은중독된 실험동물에 투여함으로써 수은중독이 감소되었다고 몇몇 연구에서 보고하였다.<sup>5,14,28)</sup>

독성물질의 노출에 의하여 형성되는 최기형 시험에서 태자의 체중변화와 함께 자궁에서 발육중인 태자의 골화형성(ossification)에 대해 관찰은 기형발생실험의 표준지표로 이용되고 있다.<sup>15)</sup> 일반적으로 흰쥐는 다른 실험동물보다 골화의 진행이 늦게 일어나며,<sup>16)</sup> 인체와 비교할 때 임신 3개월의 인체 태아골격에서 일어난 골화형성의 정도가 백서의 출생시 그것과 유사한 상태를 나타낸다고 알려져 있다.<sup>17)</sup>

따라서 본 연구에서는 흰쥐 태자의 골격형성을 측정하여 메틸수은의 노출로 인한 흰쥐 태자의 골격기형형성에 대한 마늘의 보호효과를 연구하고자 하였다. 이를 위하여 임신된 흰쥐에게 염화메틸수은과 중성 아미노

산이 풍부한 마늘을 기관형성기간(organogenesis)에 경구로 동시투여하고, 분만 하루 전에 태자를 적출하여 태자의 골격을 염색하였으며, 형성된 골화중심의 갯수와 크기를 투여군별로 구분하여 비교 분석하였다. 본 연구를 통하여 수은중독으로 인한 골격기형발생과 마늘의 보호효과를 연구하는데 중요한 기초자료를 제공할 것이라고 기대된다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

6-7주된 Fischer-344 흰쥐를 공급받아 실험실에 적응시키면서 9-10주 되었을 때 암수 각각 1마리씩 교배시키었고,<sup>18)</sup> 투여약제는 염화메틸수은(CH<sub>3</sub>HgCl, Junsei chemical Co., Ltd., EP)을 생리식염수에 용해해서 사용하였다. 사육실 환경은 온도 20~25°C, 습도 50~60% 범위를 유지하였고, 광 주기는 12시간:12시간의 비율로 인공조명(점등:오전 8시, 소등:오후 8시)을 적용하였으며, 실험기간 동안에 급여된 사료는 실험동물용 펠렛 사료(제일제당)를 무제한 급여하였고, 음료로는 수도물을 사용하여 자유로이 섭취케 하였다.

### 2. 실험설계

염화메틸수은의 골격형성 독성에 대한 마늘의 보호효과를 실험하기 위하여 염화메틸수은 투여량은 태자의 LD<sub>50</sub>에 가까운 20 mg/wt kg을 사용하였다. 암수 교배는 오전 9~10시 사이에 발정전기로 확인된 암컷을 선택하여 오후 6~7시에 수컷과 한쌍씩 합방시키고, 다음날 아침에 자성 백서의 질내에서 정자를 발견되면 임신 0일로 간주하여 실험에 이용하였다. 약제투여는 기관형성 기간인 임신 7일에 경구로 투여하였고, 분만 전날인 임신 20일에 어미를 도살하여 분석재료를 채취하였다.<sup>10,19)</sup>

### 3. 실험군 배정

염화메틸수은 독성실험의 동물실험군 배정은 Table 1에서 보는 바와 같이 대조군과 3개의 투여군으로 설정

**Table 1.** Experimental design with pregnant rats orally treated with methyl mercuric chloride (MMC) with/without garlic juice

Group	No. of pregnant rats	Dosage/kg body wt.	Route
Control	30	0.5 ml Saline	Oral
MMC20	30	20 mg methyl mercuric chloride	Oral
MMC20+G0.5	30	20 mg methyl mercuric chloride and 0.5 g garlic juice	Oral
MMC20+G1.0	30	20 mg methyl mercuric chloride and 1.0 g garlic juice	Oral
Total	120		

하여 일정한 순서를 정해 놓고, 임신 0일로 판명된 배서를 무작위로 선출하여 순서에 따라 차례대로 각 실험군에 30마리씩 총 120마리를 배정하여 실험을 실시하였다.

**4. 마늘즙의 아미노산 분석방법**

마늘즙의 아미노산 분석을 위한 전처리법은 염산법<sup>20)</sup>을 사용하였다. 실험동물에 투여하기 위하여 만들어 놓은 마늘즙을 -20°C에서 냉동 건조시킨 후 0.2~0.4 g을 아미노산 분해병(연질유리)에 넣고 6 N 염산을 6 ml 넣어 공기가 들어갈 수 없도록 밀봉하여 105°C에서 24~48시간 가수분해시키었고, 가수분해가 완료되면 수산화나트륨(NaOH)를 사용하여 용액을 pH2.2로 조정하였으며, 이 용액을 25 ml로 정확히 만든 후에 콜로이드 물질이 가라앉도록 침전시키어 상등액을 미세공 필터(0.2 μ)로 여과하였다. 이렇게 전처리가 끝난 시료는 Table 2와 같은 조건을 갖춘 아미노산 분석기(Hitachi 835-50)를 사용하여 정량분석을 실시하였다.

**5. 골격염색 및 분석**

모체에서 적출한 태자를 95% 에틸알코올로 4일 이상 고정하고, 아세톤에 1일 이상 저장하여 지방을 추출한 후, 70% 에틸알코올, 0.005% Alizarin Red S(C.I. 58005, Sigma), 5% 초산으로 만든 염색용액에 넣고 밀봉하여 37°C에서 2~3일 염색을 실시하였다. 염색이 끝나면 물로 씻고, 조직이 투명하게 되어 골격이 보일 때까지 1% 수산화칼륨(KOH) 용액에 저장한 후에 1% 수산화칼륨용액으로 만든 20%, 50%, 80% 글리신용액을 차례로 거치면서 조직을 완전히 투명하게 하였으며, 최종적으로 100% 글리신용액에 보관하였다(Inouye, 1976). 이런 과정에 의하여 염색이 완료된 태자는 해부 현미경(Zeiss STEM SV8)를 사용하여 상지대(pectoral girdle), 하지대(pelvic girdle), 중추골격(axial skeleton)

**Table 2.** Analytical conditions of amino acid analyzer

Instrument	Hitachi 835-50 Amino Acid Analyzer
Column	2.6 mm×150 mm
Resin	Hitachi Custom Ion Exchange Resin # 2619
Analysis cycle time	70 min
Buffer flowrate	0.225 ml/min
Ninhydrine pressure	0.3 ml/min
Column temperature	53°C
N <sub>2</sub> gas pressure	0.28 kg/cm <sup>2</sup>
Optimum sample quantity	3 nmol/50 μl

및 늑골(ribs)에 있는 총 127개 골격을 대상으로 골화중심(ossification center)를 계수하고, 골화형성(ossification) 길이를 측정하였다.

**6. 통계적 분석**

실험에 의하여 수집된 자료는 SAS(Statistical Analysis System) 통계프로그램을 이용하여 그룹간 차이를 GLM (General Linear Model) 분석을 실시하였고, 유의한 수준(p<0.01)으로 나타난 Table에 대해서는 Turkey test를 실시하여 실험군별 차이의 유의성(p<0.05, p<0.01)을 관찰하였다.

**III. 실험결과**

**1. 마늘의 아미노산 함량**

실험에 사용한 마늘즙의 함유된 아미노산별 함량은 Table 3과 같다. 황(S)을 함유한 아미노산은 21.96%이었으나 염화메틸수은과 화합물을 형성하여 이동하는 물질로 보고된 시스테인(cysteine)은 3.34%로 나타났고, 이들이 형성한 화합물이 이동할 때 결합하여 수은이 각 장기에 이동되는 것을 방해하는 물질로 보고된 중성아미노산은 18.54%로 나타났다.

**Table 3.** The content of Free amino acids in garlic

Amino acids	Content (mg/ml garlic juice)	%	
Glycine	1.452	2.65	
Alanine	1.669	3.05	
Valine	1.937	3.54	
Neutral	Leucine	1.859	3.40
	Isoleucine	1.010	1.85
	Serine	1.220	2.23
	Threonine	0.995	1.82
	Cysteine	1.830	3.34
S-containing	Cystine	9.880	18.05
	Methionine	0.313	0.57
Acidic	Aspartic	4.883	8.92
	Glutamic	7.586	13.85
Basic	Lysine	2.386	4.36
	Arginine	13.398	24.47
Imino acid	Proline	0.972	1.78
Aromatic acid	Thenylalanine	1.719	3.14
	Throsine	0.633	1.16
	Histidine	0.996	1.82
Total	54.738	100.00	

**2. 태자의 무게와 크기**

임신 7일에 염화메틸수는 20 mg/kg과 마늘을 투여한 후 임신 20일에 적출하여 관찰한 각 실험군 태자의 무게와 크기는 Table 4와 같다.

염화메틸수는 20 mg/kg을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 태자무게는 23.5%, 몸 크기는 21.3%, 그리고 머리 크기는 15.8%만큼 통계적으로 유의하게 감소하였으나(p<0.05), 마늘을 투여한 군에서는 태자무게, 몸 크기, 머리 크기 등이 대조군과 통계적으로 차이를 보이지 않아 마늘이 태자의 무게와 크기에 보호효과가 있음을 보여주었다.

**3. 골화중심(Ossification center)의 수**

임신 7일에 염화메틸수는 20 mg/kg과 마늘을 투여한 후 임신 20일에 적출하여 관찰한 각 실험군 태자의 골

화중심 수는 Table 5와 같다.

염화메틸수는 20 mg/kg을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 골화중심수가 하지대 지골(pelvic phalanges)에서 35.1%, 상지대 지골(pectoral phalanges)에서 53.5%, 흉골분절(terebrae)에서 74.1%, 꼬리(tail)에서 76.2%만큼 감소하여 통계적으로 유의하게 나타났다(p<0.05). 그러나 마늘을 투여한 군의 골화중심수는 모든 골격에서 대조군의 67.3~79.2% 수준과 93.1~97.0% 수준으로 나타나서 마늘이 태자의 골화중심수 형성에 보호효과가 있음을 보여주었다.

**4. 상지대(pectoral girdle)의 골격발달**

임신 7일에 염화메틸수는 20 mg/kg과 마늘을 투여한 후 임신 20일에 적출하여 관찰한 각 실험군 태자의 상지대 골격발달은 Table 6과 같다.

**Table 4.** The protective effects against the toxicity of methyl mercuric chloride (MMC) about the weights and sizes of rats' fetus

	Control	MMC20	MMC20+G0.5	MMC20+G1.0
Fetal weight (g, mean±S.D.)				
Male	3.78±0.25	2.88±0.45*	2.98±0.26	3.39±0.34#
Female	3.62±0.18	2.78±0.45*	2.93±0.30	3.25±0.27#
Average	3.70±0.23	2.83±0.45*	2.95±0.28	3.32±0.24#
Fetal body length (mm, mean±S.D.)				
Male	32.9±1.40	25.6±1.02*	27.9±1.35#	31.9±1.72#
Female	31.1±1.23	24.8±1.28*	26.6±1.06*	30.0±1.86#
Average	32.0±1.56	25.2±1.19*	27.2±1.36*	31.0±2.01#
Fetal head length (mm, mean±S.D.)				
Male	14.9±0.33	12.4±0.39*	13.1±0.44#	14.5±0.53#
Female	14.3±0.34	12.2±0.42*	12.6±0.71*	13.7±0.66#
Average	14.6±0.44	12.3±0.41*	12.9±0.64*	14.1±0.70#

MMC20 : 20 mg methyl mercuric chloride per kg body weight.

MMC20+G0.5 : 20 mg methyl mercuric chloride and 0.5 g garlic juice per kg body weight.

MMC20+G1.0 : 20 mg methyl mercuric chloride and 1.0 g garlic juice per kg body weight.

\* : Significantly different from control at p<0.05.

# : Significantly different from MMC20 at p<0.05.

**Table 5.** The protective effects against the toxicity of methyl mercuric chloride (MMC) about the number of ossification centers of rats' fetus

	Control	MMC20	MMC20+G0.5	MMC20+G1.0
Pectoral phalanges	15.9±0.32	8.5±1.84*	10.7±0.82#	14.8±1.40#
Pelvic phalanges	11.4±0.70	4.0±2.62*	8.6±1.58#	10.9±0.99#
Terebrae	5.8±0.42	4.3±0.82*	4.6±0.70*	5.4±0.52#
Tail	10.1±0.32	7.7±0.48*	8.0±0.67*	10.2±0.63#

MMC20 : 20 mg methyl mercuric chloride per kg body weight.

MMC20+G0.5 : 20 mg methyl mercuric chloride and 0.5 g garlic juice per kg body weight.

MMC20+G1.0 : 20 mg methyl mercuric chloride and 1.0 g garlic juice per kg body weight.

\* : Significantly different from control at p<0.05.

# : Significantly different from MMC20 at p<0.05.

**Table 6.** The protective effects against the toxicity of methyl mercuric chloride (MMC) about the length of ossified pectoral girdle of rats' fetus

	Control	MMC20	MMC20+G0.5	MMC20+G1.0
Clavicle	6.84±0.189	5.92±0.196*	5.97±0.159*	6.64±0.196#
Scapule	5.91±0.194	4.99±0.215*	5.05±0.276*	5.60±0.221#
Humerus	6.66±0.218	5.82±0.245*	5.91±0.202*	6.53±0.235#
Radius	7.21±0.162	4.80±0.252*	6.16±0.332**	7.09±0.283#
Ulna	5.58±0.153	4.14±0.141*	4.88±0.212**	5.52±0.228#
Metacarpals				
1st	0.69±0.080	0.53±0.061*	0.56±0.069*	0.68±0.046#
2nd	0.96±0.099	0.76±0.046*	0.81±0.066*	0.91±0.043#
3rd	0.71±0.067	0.59±0.061*	0.62±0.036*	0.69±0.051#

MMC20 : 20 mg methyl mercuric chloride per kg body weight.  
 MMC20+G0.5 : 20 mg methyl mercuric chloride and 0.5 g garlic juice per kg body weight.  
 MMC20+G1.0 : 20 mg methyl mercuric chloride and 1.0 g garlic juice per kg body weight.

\* : Significantly different from control at p<0.05.  
 # : Significantly different from MMC20 at p<0.05.

염화메틸수은 20 mg/kg을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 상지대 골격이 쇄골(clavicle)에서 66.6%, 그 외 상지대 뼈에서는 74.2~87.4%만큼 감소하여 통계적으로 유의하게 나타났다(p<0.05). 그러나 마늘을 투여한 군의 상지대 골격은 대조군의 81.2~88.7% 수준과 94.8~98.9% 수준으로 나타나서 마늘이 태자의 상지대 골격 형성에 보호효과가 있음을 보여주었다.

**5. 하지대(pelvic girdle)의 골격발달**

임신 7일에 염화메틸수은은 20 mg/kg과 마늘을 투여한

후 임신 20일에 적출하여 관찰한 각 실험군 태자의 하지대 골격발달은 Table 7과 같다.

염화메틸수은 20 mg/kg을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 상지대 골격이 2개 좌골(ischium)에서 57.1%와 56.1%, 첫 번째 부전골(metacarpals)에서 67.2%, 나머지 부전골에서 78.4~81.7%만큼 감소하여 통계적으로 유의하게 나타났다(p<0.05). 그러나 마늘을 투여한 군의 하지대 골격은 대조군의 67.0~85.6% 수준과 90.1~98.7% 수준으로 나타나서 마늘이 태자의 하지대 골격 형성에 보호효과가 있음을 보여주었다.

**Table 7.** The protective effects against the toxicity of methyl mercuric chloride(MMC) about the length of ossified pelvic girdle of rats' fetus

	Control	MMC20	MMC20+G0.5	MMC20+G1.0
Ilium	3.94±0.263	3.09±0.272*	3.29±0.180*	3.78±0.354#
Ischium				
1st	2.03±0.309	1.16±0.133*	1.36±0.201*	1.86±0.204#
2nd	1.71±0.089	0.96±0.205*	1.37±0.052*	1.54±0.159#
Femur	5.26±0.144	4.30±0.257*	4.37±0.276*	5.19±0.209#
Tibula	5.74±0.206	4.69±0.313*	4.71±0.128*	5.59±0.327#
Fibula	5.69±0.228	4.54±0.203*	4.56±0.357*	5.49±0.278#
Metacarpals				
1st	0.64±0.069	0.43±0.071*	0.48±0.043*	0.63±0.059#
2nd	1.04±0.090	0.84±0.044*	0.89±0.058	0.99±0.060#
3rd	1.05±0.092	0.84±0.061*	0.89±0.078	0.95±0.077#
4th	1.00±0.092	0.74±0.039*	0.81±0.073*	0.95±0.072#

MMC20 : 20 mg methyl mercuric chloride per kg body weight.  
 MMC20+G0.5 : 20 mg methyl mercuric chloride and 0.5 g garlic juice per kg body weight.  
 MMC20+G1.0 : 20 mg methyl mercuric chloride and 1.0 g garlic juice per kg body weight.

\* : Significantly different from control at p<0.05.  
 # : Significantly different from MMC20 at p<0.05.

**Table 8.** The protective effects against the toxicity of methyl mercuric chloride(MMC) about the length of ossified ternebrae of rats' fetus

	Control	MMC20	MMC20+G0.5	MMC20+G1.0
Ternebrae				
1st	0.98±0.219	0.45±0.113*	0.54±0.083*	0.75±0.222#
2nd	0.56±0.151	0.09±0.103*	0.18±0.121*	0.34±0.142**
3rd	0.56±0.098	0.14±0.093*	0.18±0.059*	0.33±0.102**
4th	0.44±0.110	0.12±0.095*	0.13±0.055*	0.24±0.087**
5th	0.16±0.119	0.00±0.000*	0.00±0.000*	0.03±0.033*
6th	0.94±0.227	0.19±0.137*	0.33±0.174*	0.79±0.259#

MMC20 : 20 mg methyl mercuric chloride per kg body weight.

MMC20+G0.5 : 20 mg methyl mercuric chloride and 0.5g garlic juice per kg body weight.

MMC20+G1.0 : 20 mg methyl mercuric chloride and 1.0g garlic juice per kg body weight.

\* : Significantly different from control at p<0.05.

# : Significantly different from MMC20 at p<0.05.

### 6. 흉골분절(ternebrae)의 골격발달

임신 7일에 염화메틸수는 20 mg/kg과 마늘을 투여한 후 임신 20일에 적출하여 관찰한 각 실험군 태자의 흉골분절의 골격발달은 Table 8과 같다.

염화메틸수는 20 mg/kg을 투여한 실험군의 흉골분절이 5번째 골격에서는 전혀 형성되지 않았고, 대조군에 비하여 1번째 골격은 54.1%, 2번째 골격은 83.9%, 3번째 골격은 75.0%, 4번째 골격은 72.7%, 6번째 골격은 79.8%만큼 감소하여 통계적으로 유의하게 나타났다(p<0.05). 그러나 마늘을 투여한 군의 흉골분절은 5번째 골격을 제외한 모든 골격에서 대조군의 29.5~55.1%수

준과 54.5~84.0% 수준으로 나타나서 마늘이 태자의 흉골분절 골격형성에 보호효과가 있음을 보여주었다.

### 7. 늑골(ribs)의 골격발달

임신 7일에 염화메틸수는 20 mg/kg과 마늘을 투여한 후 임신 20일에 적출하여 관찰한 각 실험군 태자의 늑골 골격발달은 Table 9와 같다.

염화메틸수는 20 mg/kg을 투여한 실험군의 늑골이 대조군에 비하여 1번째 골격이 18.0%, 2번째 골격이 11.3%, 3번째 골격이 9.8%, 4번째 골격이 9.2%, 5번째 골격이 8.3%, 6번째 골격이 8.4%, 7번째 골격이

**Table 9.** The protective effects against the toxicity of methyl mercuric chloride(MMC) about the length of ossified ribs of rats' fetu

	Control	MMC20	MMC20+G0.5	MMC20+G1.0
Ribs				
1st	2.55±0.134	2.09±0.390*	2.22±0.184*	2.51±0.131#
2nd	4.97±0.225	4.41±0.277*	4.48±0.118*	4.90±0.253#
3th	6.73±0.165	6.07±0.341*	6.09±0.159*	6.58±0.147#
4th	8.69±0.209	7.89±0.412*	8.04±0.159*	8.56±0.254#
5th	9.97±0.126	9.14±0.405*	9.25±0.184*	9.85±0.278#
6th	10.57±0.189	9.68±0.281*	9.88±0.172*	10.49±0.254#
7th	10.85±0.139	9.82±0.316*	10.06±0.179*	10.82±0.323#
8th	10.75±0.169	9.74±0.374*	9.97±0.232*	10.66±0.352#
9th	10.34±0.162	9.19±0.370*	9.53±0.227*	10.22±0.367#
10th	9.61±0.195	8.43±0.414*	8.79±0.189*	9.32±0.277#
11th	8.46±0.151	7.17±0.313*	7.58±0.150**	8.15±0.320#
12th	6.62±0.310	5.64±0.369*	5.91±0.167*	6.51±0.461#
13th	4.42±0.215	3.93±0.267*	3.99±0.224*	4.37±0.247#

MMC20 : 20 mg methyl mercuric chloride per kg body weight.

MMC20+G0.5 : 20 mg methyl mercuric chloride and 0.5 g garlic juice per kg body weight.

MMC20+G1.0 : 20 mg methyl mercuric chloride and 1.0 g garlic juice per kg body weight.

\* : Significantly different from control at p<0.05.

# : Significantly different from MMC20 at p<0.05.

9.5%, 8번째 골격이 9.4%, 9번째 골격이 11.1%, 10번째 골격이 12.3%, 11번째 골격이 15.2%, 12번째 골격이 14.8%만큼 감소하여 통계적으로 유의하게 나타났다( $p < 0.05$ ). 그러나 마늘을 투여한 군의 늑골은 5번째 골격을 제외한 모든 골격에서 대조군의 87.1~93.5% 수준과 96.3~99.7% 수준으로 나타나서 마늘이 태자의 늑골 골격형성에 보호효과가 있음을 보여주었다.

#### IV. 고 찰

태자의 체중은 이상이 있을 경우에 현저히 감소되기 때문에,<sup>21)</sup> 태자의 체중과 크기의 변화는 임신 중에 폭로된 약물에 의한 발생한 기형의 한 형태로 간주한다.<sup>22,23)</sup> Fuyuta 등<sup>6)</sup>은 염화메틸수은 7.5, 6.0, 5.0 mg/kg/day를 C57BL 생쥐와 Wistar 백서에게 투여했을 때, 암수 태자의 평균체중이 크게 감소했다고 보고했고, ICR 생쥐에게 임신 10일에 염화메틸수은 25, 20, 15 mg/kg를 투여했을 때에도 태자의 체중이 대조군에 비해 현저히 감소했다고 보고했다. 본 실험에서도 염화메틸수은 20 mg/kg를 투여하였을 때에 대조군에 비하여 태자의 체중이 23.5%, 몸 크기가 21.3% 그리고 머리 크기가 15.8%만큼 감소하여 통계적으로 유의하게 나타났다( $p < 0.05$ ). 그러나 마늘을 투여하였을 경우에 태자의 체중과 몸 및 머리의 크기가 대조군과 거의 비슷하게 나타나서 태자 수은독성에 대하여 마늘이 보호효과가 있음을 보여주었다. 태자 체중 및 크기가 감소하는 원인이 유사분열율(mitotic growth rate)의 저해 때문이라는 연구결과<sup>5,6)</sup>를 고려해 볼 때 메틸수은이 세포의 유사분열에 영향을 주고 있지만, 마늘에 이에 대한 보호효과가 있음을 추론할 수 있기 때문에 이에 대해 깊은 연구가 필요하다고 생각한다.

최기형 실험에서 태자의 체중과 함께 골화형성 상태가 기형판단의 중요한 지표가 되기 때문에 자궁내 발육중인 태자의 골격형성(ossification)을 관찰하는 것은 최기형 실험의 표준지표로 이용되고 있다.<sup>15)</sup>

임신중의 백서에게 염화메틸수은을 태아의 기관형성 기간에 투여했을 때 나타나는 최기형성은 구개열(cleft palate), 부종과 뇌기형, 수신증(hydronephrosis) 등의 장기기형과, 골화지연, 골격손실, 골격기형 등과 같은 태자 성장지연이라고 보고되고 있다.<sup>5,6,24)</sup> Fuyuta 등<sup>6)</sup>은 Wistar 백서와 C57BL 생쥐에게 임신중 기관형성기간에 염화메틸수은을 7.5, 6.0, 5.0 mg/kg 투여했을 때 구개열, 부종과 뇌기형, 수신증, 척추골격 기형, 갈비뼈 기형 등이 관찰되었고, 임신 10일된 ICR 생쥐에게 염화메틸수은을 25, 20, 15 mg/kg 투여했을 때에는 구개열

발생율이 100%, 58.6%, 28.0%로 관찰되었으며, 수신증 발생율은 25와 20 mg/kg의 메틸수은을 투여했을 때 각각 23.8%와 18.5%로 관찰되었다고 보고하였다. Curle 등<sup>5)</sup>도 임신 9일된 ICR Swiss/Webster 생쥐에게 염화메틸수은을 20, 15, 10 mg/kg 투여했을 때 구개열의 발생율이 100%, 69.5%, 22.0%로 관찰되었다고 보고하였다.

그러나 Harris 등<sup>25)</sup>은 임신 중인 햄스터에 염화메틸수은을 투여하였지만 구개열이 관찰되지 않았다고 보고하였고, Fuyuta 등<sup>6)</sup>도 임신 중인 Wistar 백서에 염화메틸수은을 투여하였으나 구개열이 관찰되지 않았다고 보고하였다. 이렇게 구개열 발생이 차이가 나는 이유에 대하여 Su & Okita<sup>24)</sup>은 실험동물의 종간(種間) 차이 때문이라고 설명하였고, Fuyuta 등<sup>6)</sup>은 염화메틸수은에 대해 실험동물마다 감수성(susceptibility)이 다르기 때문이라고 설명하였다. 또한 Fuyuta 등<sup>6)</sup>에 의하면 구개열의 발생은 구개 발생과정 자체에 의해서 뿐만 아니라 혀, 턱, 두개 등과 같은 주변기관들의 발달과 연관되어 있어서 여러 가지 요인이 작용하여 형성된다고 설명하였으며, 염화메틸수은에 의하여 관찰되는 공통적인 최기형의 형태는 골화지연, 골격기형, 체중감소 등이며, 이것을 종합하여 태아성장지연이라고 설명하였다.<sup>29)</sup>

본 실험중 Fischer-344 백서에 대하여 임신 7일에 염화메틸수은을 20 mg/kg를 투여하고 임신 20일에 태자를 적출하여 관찰하였을 때 구개열이 관찰되지 않았으나 대조군에 비하여 태자의 골화중심수가 크게 감소하였고, 상지대 하지대 흉골본질 꼬리 등의 골격형성이 크게 지연된 것으로 나타났다. 그러나 마늘을 메틸수은과 동시에 투여하였을 경우에 대조군과 거의 비슷한 수준으로 골격이 형성된 것으로 나타났다.

골격형성의 과정을 보면, 간중세포(mesenchyme)의 집합체인 전골격아체(preskeletal blastema)가 적당한 자극을 받아 연골내골화(endochondral ossification)에 의해서는 치환골(replacement bone)이 형성되고, 막내골화(intramembranous ossification)에 의해서는 막골(membrane bone)이 형성되는 것으로 구분할 수 있다<sup>26)</sup>. 연골내막화와 막내골화를 지연시키는 요인은 칼슘 자체의 부족 혹은 칼슘을 흡수하여 골격화하는데 필요한 비타민 A, C, D 부족 등 영양물질결핍 요인과 parathyroid hormone, calcitonin, pituitary growth hormone 등 골격형성과 관련된 호르몬에 이상이 발생한 경우로 설명할 수 있기 때문에,<sup>27)</sup> 메틸수은의 노출로 인하여 골격형성에 필요한 영양물질이 제대로 공급되지 않게 하거나 골격형성에 관련된 호르몬에 영향을 줄 가능성이 높다. 이런 측면으로 볼 때에 마늘이 -SH

기를 함유하고 있는 아미노산을 다량으로 함유하고 있어서 수은과 결합하여 수은의 독성작용을 봉쇄하기 때문에 태자의 골격형성에 대한 수은의 독성으로부터 마늘이 보호작용을 하는 것으로 생각할 수 있다.

홍골분절의 골격형성에 대해서는 다른 골격에 비하여 메틸수은에 의한 영향을 가장 크게 나타냈고, 마늘에 의한 보호효과도 가장 낮은 것으로 나타났다. 이것은 홍골분절의 골격이 내막골화에 의해서 형성되는데 반하여 다른 골격은 연골내골화에 의해서 형성되기 때문인 것으로 생각된다.<sup>27)</sup> 그러나 그에 대한 구체적인 독성 및 보호작용의 메카니즘에 대해서는 더 많은 연구가 요망된다.

## V. 결 론

임신 7일된 Fischer 흰쥐에게 염화메틸수은과 증성 아미노산을 18.54% 함유하고 있는 마늘을 경구로 투여하고, 임신 20일에 태자를 적출하여 태자의 무게와 크기를 측정하였으며, 태자의 골격을 염색하여 골화중심수, 상지대, 하지대, 홍골분절, 늑골 등의 골격형성을 관찰하고 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

태자 무게와 크기는 메틸수은 20 mg/kg을 투여한 실험군이 대조군에 비하여 태자무게는 23.5%, 몸 크기는 21.3%, 그리고 머리 크기는 15.8%만큼 감소하였지만 ( $p<0.05$ ), 마늘을 투여한 군에서는 태자무게, 몸 크기, 머리 크기에서 모두 대조군과 비슷한 수준으로 나타났다.

골화중심수는 메틸수은 20 mg/kg을 투여한 실험군이 대조군에 비하여 하지대 지골(pelvic phalanges)에서 35.1%, 상지대 지골(pectoral phalanges)에서 53.5%, 홍골분절(terebrae)에서 74.1%, 꼬리(tail)에서 76.2%만큼 감소하였지만( $p<0.05$ ), 마늘을 투여한 군의 골화중심수는 모든 골격에서 대조군의 67.3~79.2% 수준과 93.1~97.0% 수준으로 나타났다.

상지대 골격형성은 메틸수은 20 mg/kg을 투여한 실험군이 대조군에 비하여 쇄골(clavicle)에서 66.6%, 그 외 상지대 뼈에서는 74.2~87.4%만큼 감소하였지만 ( $p<0.05$ ), 마늘을 투여한 군의 상지대 골격은 대조군의 81.2~88.7% 수준과 94.8~98.9% 수준으로 나타났다.

하지대 골격형성은 메틸수은 20 mg/kg을 투여한 실험군이 대조군에 비하여 2개 좌골(ischium)에서 57.1%와 56.1%, 첫 번째 부전골(metacarpals)에서 67.2%, 나머지 부전골에서 78.4~81.7%만큼 감소하였지만 ( $p<0.05$ ), 마늘을 투여한 군의 하지대 골격은 대조군의 67.0~85.6% 수준과 90.1~98.7% 수준으로 나타났다.

홍골분절은 메틸수은 20 mg/kg을 투여한 실험군이 5번째 골격에서는 전혀 형성되지 않았고, 대조군에 비하여 1번째 골격은 54.1%, 2번째 골격은 83.9%, 3번째 골격은 75.0%, 4번째 골격은 72.7%, 6번째 골격은 79.8%만큼 감소하였지만( $p<0.05$ ), 마늘을 투여한 군의 홍골분절은 5번째 골격을 제외한 모든 골격에서 대조군의 29.5~55.1% 수준과 54.5~84.0% 수준으로 나타났다.

늑골은 메틸수은 20 mg/kg을 투여한 실험군이 대조군에 비하여 1번째 골격이 18.0%, 2번째 골격이 11.3%, 3번째 골격이 9.8%, 4번째 골격이 9.2%, 5번째 골격이 8.3%, 6번째 골격이 8.4%, 7번째 골격이 9.5%, 8번째 골격이 9.4%, 9번째 골격이 11.1%, 10번째 골격이 12.3%, 11번째 골격이 15.2%, 12번째 골격이 14.8%만큼 감소하였지만( $p<0.05$ ), 마늘을 투여한 군의 늑골은 5번째 골격을 제외한 모든 골격에서 대조군의 87.1~93.5% 수준과 96.3~99.7% 수준으로 나타났다.

결론적으로 임신된 흰쥐에게 기관형성기간에 메틸수은을 투여하였을 경우에 태자의 몸 무게, 크기, 골화중심, 각 부위별 골격형성 등에 큰 영향을 주었지만, 마늘을 동시 투여하였을 경우에 태자의 골격성장이 대조군과 비슷한 수준으로 나타나서, 수은에 의한 태자 골격성장독성에 마늘이 보호효과가 있는 것으로 밝혀졌다.

## 감사의 글

본 연구는 2007년도 공주대학교 자체학술연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Amin-Zaki, L., Majeed, M. A., Elhassani, L. S., Clarkson, T. W., Greenwood, M. R. and Doherty, R. A. : Prenatal methylmercury poisoning : Clinical observation over five years. *American Journal of Diseases of Children*, **133**, 172-177, 1979.
2. Kato, H. : Induction of sister chromatide exchanges by chemical mutagens and its possible relevance to DNA repair. *Experimental Cell Research*, **85**, 239-247, 1974.
3. Kelman, B. J. Walter, B. K. and Sasser, L. B. : Fetal distribution of mercury following introduction of methylmercury into porcine maternal circulation. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **10**, 191-200, 1982.
4. Lee, J. H. : Decreasing effects of korean garlic against the accumulation of mercury levels in mater-



- nal and fetal organs in pregnant Fischer-344 rats. *Korean Society of Environmental Health*, **22**(3), 17-27, 1996.
5. Curle, D. C., Ray, M. and Persaud, T. V. N. : In vivo evaluation of teratogenesis and cytogenetic changes following methylmercuric chloride treatment. *The Anatomical Record*, **219**, 289-295, 1987.
  6. Fuyuta, M., Fujimoto, T. and Hirata, S. : Embryotoxic effects of methylmercuric chloride administered to mice and rats during organogenesis. *Teratology*, **18**, 353-366, 1978.
  7. Khera, K. : Teratologic effects of methylmercury in the cat : Note on the use of this species as a model for teratogenicity studies. *Teratology*, **8**, 293-303, 1973.
  8. Pinto-Machado, J. : External examination of limb positions in near-term mouse fetuses : An experimental study and review of the literature published in teratology. *Teratology*, **31**, 413-423, 1985.
  9. Tsuchiya, M., Mitani, K., Kodama, K. and Nakata, T. : Placental transfer of heavy metals in normal pregnant Japanese women. *Archives of Environmental Health*, **39**, 11-17, 1984.
  10. Calabrese, E. J. : Nutrition and Environmental Health, The influence of nutritional status on pollutant toxicity and carcinogenicity. *Wiley Inc.*, **1**, 519-522, 1980.
  11. Fair, P. H., Baithrop, J. E., Wade, J. L. and Braddon-Galloway, S. : Toxicity, distribution and elimination of thiol complexes of methylmercury after intracerebral injection. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **19**, 219-233, 1986.
  12. Lee, J. H. : Comparison of the mercury levels between maternal and fetal organs in pregnant Fischer-344 rats. *Korean Journal of Environmental Health Society*, **20**(3), 39-48, 1994.
  13. Whang, J. I., Bae, E. S. and Cha, C. W. : A study on the protective effect of the korean garlic on the albino rat, chronically exposed to methyl mercury. *Korea University Medical Journal*, **23**(1), 121-130, 1986.
  14. Lee, J. S. : Effects of garlic on the metabolic processes(I)-(VII). *Seoul University Journal*, **5**(1), 144-166, 1957.
  15. Kavlock, R. J., Chernoff, N., Roger, E., White, H., Carver, B., Gray, J. and Robinson, K. : An analysis fetotoxicity using biochemical endpoints of organ differentiation. *Teratology*, **26**, 183, 1982.
  16. Baker, H. J., Lindsey, J. R. and Weisbroth, S. H. O. : Selected normative data, Appendix I in The laboratory rats, Academic Press, New York, I, 412-413, 1979.
  17. Strong, R. M. : The order, time and rates of ossification of the albino rat skeleton. *American Journal of Anatomy*, **36**, 313, 1936.
  18. Rao, G. N. and Boorman, G. A. : Histology of the Fischer rats, in Boorman, G. A., Eustis, S. L. and Elwell, M.R., Pathology of the Fischer rat reference and Atlas, Academic Press. Inc. New York, 5-8, 1990.
  19. Inouye, M. : Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Chinese Journal of Anatomy*, **16**, 171-173, 1976.
  20. A.O.A.C. : Official method of analysis, 14th edition, Association of Official Analytical Chemists, 878-880, 1984.
  21. Jensch, R. P. and Brent, R. L. : An analysis of the growth retarding effects of Try pan Blue in Albino rats. *Anatomical Record*, **159**, 453-460, 1967.
  22. Hayes, A. W. : Principles and methods of toxicology, 3rd eds., Raven Press, New York, 1990.
  23. Klaassen, C. D., Amdur, M. O. and Doull, J. : Casarett and Doull's Toxicology, the basic science of poisons, 5th, Interantional Edition, 1995.
  24. Su, M. Q. and Okita, G. T. : Embryocidal and teratogenic effects of methylmercury in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **38**, 207-216, 1976.
  25. Harris, S., Wilson, J. and Printz, R. : Embryotoxicity of methylmercuric chloride in golden hamsters. *Teratology*, **6**, 139-145, 1972.
  26. Kent, G. C. : Comparative anatomy of the vertebrates, 6th eds., Times Mirror/Mosby, 168-205, 1987.
  27. Ross, M. H. and Reith, E. J. : Histology, A text and Atlas, 315-321, 1985.
  28. Stoll, A. and Seebeck, E. : Chemical investigations of Alliin, the specific principle of garlic. *Helvetica Chirurgica ACTA*, **34**, 377-400, 1951.
  29. Lee, J. H. : Methylmercuric chloride(MMC) and reduction of the fetal ossification in Fischer-344 rats during organogenesis. *Korean Society of Environmental Health*, **27**(2), 73-81, 2001.