*J. Fd Hyg. Safety, 13(2), 171 - 187(1998)*

# 마늘유(diallyl disulfide)와 비타민 A(retinol acetate)가 카드뮴 투여 랫드에 미치는 영향

김판기
용인대학교 환경보건학과, 경기도 용인시 삼가동 *117, 449-714*

# Effects of Garlic Oil (diallyl disulfide)/Vitamin A (retinol acetate) on Heat Shock Protein Induction in Cadmium Treated Rats

**Pan-Gyi Kim**
*Department of Environmental Health, Yongin University, Yongin city, 449-714*

**ABSTRACT** — Garlic occupies a special position among the many foods of vegetable origin because it is the sole food for Koreans during the their lives. And vitamin A has been ingested by forms of food or additives. Cadmium has been described as 'one of the most dangerous trace elements in the food and environment of man and livestocks'. Since the *de novo* synthesis of stress proteins can be detected early after exposure to some agents, analysis of cadmium-induced changes in gene expression, *i.e.* alterations in patterns of protein synthesis, may be useful to develop as biomarkers of exposure and damage for food hygiene. The acute and chronic combined effects of cadmium (Cd, $CdCl_2$ 20 mg/kg), garlic oil (Dds : diallyl disulfide 50 mg/kg, 3 times a week) and vitamin A (Ra : retinol acetate 50,000 IU/kg, 3 times a week) on Wistar male rats were evaluated concerning cadmium contents, tissues enzyme activity, HSP expression, histopathological and electron microscopical examinations. The results of the study are as follows : 1. Less cadmium was absorbed through the digestive tracts, but the ratio of contents in renal to hepatic cadmium was higher at 8 weeks after treatment. The cadmiun contents in tissue were not changed by the simultaneous administration of diallyl disufide or retinol acetate. 2. ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase), glucose, BUN (blood urea nitrogen), creatinine, the key indices of the clinical changes in hepatic and renal function were significantly changed by the cadmium treatment after 1 week in liver, after 4 weeks in kidney. 3. Histopathological changes in cadmium treated rats were appeared at 8 weeks after treatment in kidneys. Homogenous eosinophilic material was accumulated in cortical and collecting tubular lumens at 16 weeks. Degenerated or necrotized tubular cells were observed in cortex and medulla. Degenerated seminiferous tubules and homogeneous eosinophilic material was seen in interstitial tissue of rat treated with cadmium for 16 weeks. Calcium deposits were seen in degenerated seminiferous tubules and the tubules showed severe calcification of rat treated with cadmium for 16 weeks. Electron microscopic changes in kidney were observed in rats treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg. Proximal convoluted tubule cells showed swelling of cytoplasm and narrow lumen. Capillary endothelial cells showed cytoplasmic vacuoles and swelling. Degenerated epithelial cells were accumulated in tubular lumen of kidney. 4. Enhanced synthesis of 70 KDa relative molecular mass proteins were detected in 2 hours after cadmium exposure, with maximum activity occurring at 8~48 hours. Induction of HSP 70 was evident at proximal tubules and glomeruli in kidney. Testicular cells produced enough HSP to be detected normally. From the above results, it could be concluded that $HSP_{70}$ induction by the cadmium treatment was a rapid reaction to indicate the exposure of xenobiotics, and retinol acetate reduced the cadmium induced nephrotoxicity.

**Key words** □ cadmium, $HSP_{70}$, diallyl disulfide, retinol acetate

†Author to whom correspondence should be addressed.

최근 급격한 산업화가 진행되면서 環境汚染은 자연생태계를 파괴하고 人畜의 건강을 크게 위협하게 되었으며, 특히 산업발달에 따른 비소, 납, 카드뮴 등의 빈번한 사용은 重金屬에 人畜이 暴露될 가능성을 한층 높이고 있다.[1] 카드뮴은 亞鉛鑛의 製鍊 및 精製過程에서 副産物로 생산되고 있으며, 산업발전에 따라 電氣鍍金, 塗料, 플라스틱安定劑, 合金, 蓄電池 등의 분야에서 광범위하게 사용되고 있다. 광범위한 분야의 사용으로 土壤이나 水質汚染에 의한 오염된 환경속에서 생장하는 모든 食物의 카드뮴축적량을 증대시키고 이로 인하여 食品으로 이용하거나 오염된 飮用水를 통하여 人畜에 그 殘留量을 증대시키고 있다.[1,2] 카드뮴은 폭로되는 量과 化學的 形態, 暴露期間 및 體內 暴露經路 등에 따라 다양한 특성을 나타내는데 일반적으로 腎機能 障碍, 肝組織 損傷, 中樞神經 障碍, 骨軟化症, 高血壓등을 유발시키는 것으로 알려져 있으며, 생체내의 각종 금속酵素의 活性을 沮害하는 작용을 하고 赤血球에 損傷을 일으키며 成長을 沮害하고, 變異原性, 發癌性, 催奇形性, 內分泌 및 生殖毒性을 나타내기도 한다. 일본 Toyama현 지역에서 카드뮴 축적에 의해 발생한 바 있는 이따이-이따이병은 腎臟近位細尿管 損傷과 骨軟化症을 나타내기도 하였다. 또한, 최근에는 소위 환경호르몬(endocrine disruptor)으로서 카드뮴을 취급하고 있다.[1-4]

職業性 혹은 環境汚染에 의한 카드뮴 暴露는 다양한 臟器에서 영향을 나타내는데, 고농도의 카드뮴을 吸入함으로써 呼吸器係에 損傷을 주며, 食品 · 飮用水로 섭취할 때에는 10 mg 이상에서 嘔吐와 다른 胃腸管症狀을 일으킨다.[1,3] 용등[5]은 국내 種鷄場 鷄舍내 공기중 중금속함량 조사에서 카드뮴이 0.134 μg/m$^3$이 검출되었다고 보고하여 農畜産人의 폭로가능성과 鷄肉의 오염가능성을 보고하였으며, ACGIH(American Conference of Governmental Industrial Hygienist)에서는 카드뮴을 發癌可能性 물질로 분류하고 작업장에서의 許容基準을 0.01 mg/m$^3$으로 규정하고 있다.[6]

카드뮴이 생체에 위해를 나타내는 生化學的인 機轉은 아직까지 확실하게 밝혀지지 않았지만, 카드뮴이 體內 代謝過程의 酵素活性을 억제하는 機轉과 細胞膜 蛋白質중 sulfhydryl(SH)기와 結合함으로써 나타나는 細胞膜透過 및 物質移動 妨害機轉으로 설명되어지고 있다.[7,8]

카드뮴 영향에 대한 防禦 혹은 輕減效果는 脂質過酸化 반응의 酸素遊離基를 -SH기와 결합시키는 방법 등의 補集劑(scavenger)로 제거하는 방법, 카드뮴에 特異的으로 結合하는 metallothionein(MT) 등의 合成을 촉진하는 방법, 細胞에 미치는 영향을 신속하게 恢復시켜주는 물질을 사용하는 방법 등이 있다. 이에 따라, 직 · 간접적인 MT 합성자극 물질인 L-ascorbic acid, Zn, Cd의 前處置로 카드뮴위해를 輕減시킨 보고와 -SH화합물 投與에 의한 카드뮴 補集效果, 프로게스테론에 의한 睾丸毒性 輕減效果 등이 보고되었다.[7,9,10] 또한, 우리의 식생활에서 흔히 즐겨먹는 식품인 마늘成分중 diallyl disulfide, propylallyl disulfide, glutathione, thiolactic acid 및 비타민 $B_1$ 등이 카드뮴에 의한 위해를 防禦하였다는 보고도 있었다.[11] 그러나, -SH화합물로서 마늘의 카드뮴의 위해효과에 대한 防禦작용은, -SH화합물과 카드뮴이 장내에서 不溶性鹽을 형성하여 腸內 吸收를 妨害하여 나타나는 輕減효과이므로, 일단 吸收된 카드뮴에 대한 주요 장기에서의 효과에 대해서는 의문이 제기되고 있다.

視力, 生殖, 각종 上皮組織의 分化 · 增殖 調節에 관여하는 비타민 A 代謝와 관련된 蛋白質을 보유하고 있는 肝臟의 stellate cell이 카드뮴에 강한 解毒작용을 나타냈다는 보고가 있어, 식품으로서 혹은 영양보조제로 섭취하게 되는 비타민 A가 카드뮴에 의한 細胞壞死의 防禦 · 恢復 가능성을 제시하였다.[12]

細胞가 最適成長溫度보다 5~10°C 높은 溫熱條件에 暴露되면 일련의 蛋白質群을 合成하는 반응을 보이는데, 이것을 스트레스蛋白質(stress proteins, SPs) 혹은 熱衝擊蛋白質(heat shock proteins, HSPs)이라고 한다. 스트레스蛋白質은 細胞質과 核부위에 산재하고 있으며, 스트레스에 의해 核과 核小體에 축적된다고 보고되었고, 포유류 細胞의 耐熱性 獲得과 관계있는 것으로 알려지고 있다. 스트레스蛋白質의 誘導物質은 $H_2O_2$, $NaAsO_2$, Cd, Ethyl alcohol, 바이러스感染 등으로 알려지고 있다.[13,14] 스트레스蛋白質은 $HSP_{90}$, $HSP_{70}$, $HSP_{47}$, $HSP_{27}$ family와 ubiquitin으로 구분된다. $HSP_{70}$ family는 細胞保護機能(chaperonin)이며, $HSP_{72}$는 스트레스에 의한 유도형태로, $HSP_{73}$은 正常細胞發育 · 分化에서도 표현되는 형태로 알려지고 있다.[13-15] 스트레스(組織損傷, 熱, 化學物質暴露, 貧血)상태에서 70 KDa의 스트레스蛋白質 合成이 증가하며, 스트레스 조건에 대한 細胞水準의 防禦와 손상된 細胞의 恢復을 증진시키는 역할을 수행하는 것으로 보고되고 있다.

김[16]은 $CdCl_2$ 投與 後에 나타나는 細胞損傷에 관한 生物學的 指標로서 腎臟의 스트레스蛋白質 遺傳子 發顯의 변화를 실험한 결과, 카드뮴 投與 後 2~4시간에 스트레스蛋白質群인 70 KDa의 蛋白質 합성이 증가되어, 카드뮴에 대한 細胞損傷의 指標로서 스트레스 蛋白質의 역할을 제시하였다.

카드뮴暴露에 대한 生物學的 指標로서 가장 중요하게 여겨지는 것은 尿中 카드뮴含量으로서, 뇨중 카드뮴의 증가는 체내에서 MT와 結合하여 포화가 되었을 때 최근의 暴露量, 신체적 부담 및 腎臟카드뮴 농도를 반영하는 指標가 된다. 뇨중의 NAG(N-acetyl-β-D-glucosamidase), transferrin, protein 1 그리고 血中의 creatinine, BUN(blood urea nitro-

gen) 등이 카드뮴에 의한 腎臟損傷의 指標로 사용되고 있다. 또한, 레티놀 結合蛋白質은 近位細尿管 기능검사에서 $\beta_2$-microglobulin보다 뇨중 安定性과 검사법의 敏感度에서 더 현실적이고 믿을 만한 검사로 평가되고 있으며, 이외에 총단백량, 尿糖, MT, Cu 등을 측정함으로써 카드뮴暴露를 간접적으로 알 수 있다. 그러나, 이런 指標物質들은 모두 카드뮴에 의한 腎臟損傷에 의해 再吸收機能不全이 나타나고, 이에 따라 뇨중에 排泄되는 저분자량의 蛋白質 등을 측정하게 되는 원리로서 생체조직의 損傷이전에 카드뮴暴露를 보고할 수 있는 指標는 사실상 없는 실정이다. 특히, 중금속 폭로후 바로 食用으로 出荷될 가능성이 있는 家畜은 중금속이 생체내에 축적되어 있는 상태이나 臨床的으로 이를 증명할 만한 현실적인 방안이 없는 실정이다.[1,17,18]

따라서, 본 실험에서는 카드뮴暴露에 대한 細胞水準의 初期反應으로서 $HSP_{70}$의 發顯時期를 확인하고, 이때의 카드뮴暴露 水準을 파악하며, 우리 食生活 중 자연스럽게 다량 섭취하게 되는 마늘油의 주성분 diallyl disulfide가 생체吸收된 카드뮴의 효과에 어떻게 작용하는지를 규명하고자 하였다.

## 實驗材料 및 方法

### 實驗材料

실험동물은 特定病原體 不在(Specific Pathogen Free) 숫컷 Wistar 랫드를 사용하였으며, 실험실 사육조건은 明暗 12시간 교대(조명시간 06:00~18:00), 환기회수 12~15회/시간, 溫度 22±2°C, 相對濕度 55±5%가 유지되는 조건에서 실험을 실시하였으며, 실험기간중 수도물과 실험동물용 고형사료(신촌사료<주>)는 자유로이 給食토록 하였다. 실험시작시에 8주령 동물을 공급받아 실험실에서 1주 이상 실험실 環境에 適應시킨 후 실험에 사용하였다. 사료중의 微量金屬의 含量은 0.002 mg/kg이었다.

實驗群 설정과 사용 랫드 마리수를 Table 1에 제시하였다. 카드뮴은 CdCl2(Cd, Sigma Co, USA)로서 20 mg/kg을 주 6회 증류수에 용해하여 經口投與(p.o.)하였으며, diallyl disulfide(Dds, 東京化成, Japan)는 50 mg/kg, retinol acetate (Ra, Sigma Co. USA)는 50,000 IU/kg의 용량으로 玉胚油(corn oil)에 용해하여 주 3회 카드뮴投與 前 30~60분에 經口投與하였다. 投與用 試藥은 실험전에 조제하여 사용하였다. 카드뮴 投與 後 1, 2, 4, 8, 16, 24시간과 2, 4, 7일, 2, 4, 8, 16주에 혈액을 채취하고 剖檢하여, 肝臟, 腎臟, 睾丸을 摘出한 후 실험방법에 기술한 내용으로 보관 및 처리하였다.

$CdCl_2$는 豫備實驗을 통하여 肝臟, 腎臟, 睾丸에서 $HSP_{70}$ 發顯이 증가되는 최소용량을 설정하였고, diallyl disulfide는 발암억제효과가 있다고 알려진 有效用量을 기초로 하여 毒性이 나타나지 않는 最大耐性用量을 설정하였으며,[11,19] retinol acetate는 부작용이 나타나지 않는 最大臨床用量을 기초로 하여 설정하였다.[20]

### 臟器中의 카드뮴含量 分析

肝臟, 腎臟, 睾丸 및 血液에 대한 前處理는 Goering 등[21]의 방법에 따라 각 장기 조직 50 mg/ml HCl을 넣어 24시간 消化시킨 후 3,000 g 10분간 遠心分離하여 上層液을 취하였다. 이 상층액을 Inductively Coupled Plasma(Jobin Yvon Co. France)로 카드뮴含量을 測定하였다. 이때 분석 조건은 가스流速 0.3 l/min, 시료주입속도 1 ml/min, Rf power 65 V로 하였다.

### 血液中 酵素의 測定

剖檢 1일 前부터 絶食시킨 랫드로부터 血液 중의 酵素 測定을 위해 心臟으로부터 血液을 採取하여 냉장상태로 실험실로 이동하고, 냉장고에 3~5시간 정도 방치한 후 冷藏遠心分離機로 3600 rpm에서 30분 처리하였다. 血淸을 시험관에 담아 분석할 때까지 냉동실(-70°C)에 보관하였다. AST (aspartate aminotransferase, GOT), ALT(alanine aminotransferase, GPT), glucose, BUN(blood urea nitrogen), creatin-

**Table 1. Experimental design for group allocation and chemical treatments** (unit : number of rats)

| Time / Group | Hour | | | | | Day | | | Week | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | |
| Control | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 105 |
| Cd | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 11 | 11 | 8 | 9 | 8 | 9 | 126 |
| Cd+Dds | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 11 | 10 | 8 | 9 | 9 | 9 | 126 |
| Cd+Ra | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 11 | 8 | 9 | 9 | 9 | 126 |

CD: Cadmium chloride 20 mg/kg in distilled water
Dds: diallyl disulfide (50 mg/kg in corn oil p.o., times a week)
Ra: Retinol acetate (50,000 IU/kg in corn oil p.o., 3 times a week)
6-11 animals were sacrificed on each necropsy.

ine을 Technicon RA-XT random access chemistry analyzer (Technicon Instruments Corporation, Tarrytown, NY, USA)로 측정하였다.

### 病理組織學的 觀察

부검한 동물은 肉眼檢査를 실시한 후, 肝臟, 腎臟, 睾丸을 적출하여 10% 중성포르말린 용액에 고정하였다. 각 장기에서 5~6개의 組織切片을 만들었으며, 고정된 장기는 일반적인 組織處理過程을 거쳐 파라핀 包埋하여 4 μm의 두께로 切片하였다. Hematoxylin과 Eosin(H&E)染色하여 광학현미경(Polyvar, Reichert-Jung, Germany)으로 관찰하였다.

부검동물의 肝臟과 腎臟을 1 $mm^3$크기로 細切하여 1% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde를 혼합한 電子顯微鏡 專用固定液에 120분간 고정하고, 0.1 M cacodylate완충액(pH 7.3)으로 30분씩 2회 씻어준 후 1% osmium tetroxide용액에 90분간 後固定하였다. 後固定한 조직을 0.1 M cacodylate 완충액으로 30분간 2회 씻어주고 통상적인 방법에 따라서 脫水한 다음 에폰樹脂에 包埋하였다. 包埋 後 1 μm 두께로 薄切片하고 1% toluidine blue로 염색하여 관찰부위를 선정하였다. 선정된 부위를 초박절편기(Ultracut-S, Reichert-Jung, Germany)로 60~80 nm의 두께로 절편하여 uranyl acetate와 lead citrate로 二重染色하여 透過電子顯微鏡(CM12, Philips, Netherland)으로 80 kv에서 관찰하였다.

### HSP 發顯 檢出

부검할 때 채취한 각 장기조직은 호모게나이저(Homogenizer, Omni International, USA)로 均質化하고 냉장상태에서 16,000 g로 30분간 원심분리하였다. 상층액(cytosol 分劃)을 채취하여 냉동실(-72°C)에 보관하고, 냉장상태에서 완전히 해동하여 분석에 사용하였으며, 샘플내의 蛋白質含量을 Bradford분석법으로 측정하여 同量의 蛋白質이 사용되도록 하였다. 蛋白質을 전기영동(polyacrylammidegel electrophoresis)하였으며 니트로셀루로스膜에 轉移하여, 이 膜을 HSP 抗體와 반응시켰다. 여기에 2차 抗體를 반응시키고 螢光發光體를 붙여 發色시킨 다음 X-선 필름에 감광시켜 HSP의 發顯程度를 분석하였다.[21,22]

## 結 果

### 體重의 變化

랫드에 카드뮴(Cd)과 diallyl disulfide, retinol acetate를 投與한 결과, 카드뮴投與群에서는 投與 1일 후부터 간혹 泄瀉 및 웅크리고 있는 증상이 보였고, 동물의 털에 윤기가 없어지고 직립하는 증상을 보였다. Cd+Dds群, Cd+Ra群에서는 위와 같은 증상이 심하지 않았다.

카드뮴을 投與하였을 때, 投與 1주 후부터 각 投與群에서 체중증가 鈍化現像을 보였다. Cd+Ra群은 投與 4주부터 7주까지, 9주부터 16주까지 대조군에 비하여 체중증가 鈍化의 통계학적인 有意性이($p<0.05$) 인정되었다. Cd+Dds群에서는 投與 전반기(2주째, 4~6주째)에 나타난 체중증가 둔화가 7주 이후에는 점차 회복하여 對照群 수준으로 회복되었다.

### 主要臟器의 카드뮴含量

Table 2에서 보는 바와 같이, 증류수를 投與한 對照群의 全血中의 카드뮴含量 0.003~0.034 μg/g을 전 실험기간 동안 유지하였다. 시험물질 投與群중 Cd群은 投與 2시간 後부터 血中의 카드뮴含量이 0.059 μg/g으로 증가하기 시작하여 4시간 후에 1.256 μg/g으로 最高濃度에 이르고, 다음 投與가 있기 전까지 계속 감소하여 24시간에 0.144 μg/g이었다. 그후 反復投與에 의해 혈액중 카드뮴含量이 점차로 증가하여 2일에 1.140 μg/g, 16주에는 2.917 μg/g의 농도를 나타내었다. Cd+Dds, Cd+Ra群에서도 投與 後 2시간부터 0.069, 0.052 μg/g으로 증가하기 시작하여, 16주에는 2.881, 2.897 μg/g으로 Cd群과 유사한 증가를 보였다. Cd群의 농도는 다른 投與群의 농도보다 先行하여 이동하므로 diallyl disulfide 혹은 retinol acetate 投與에 의해 카드뮴의 吸收가 遲延되는 效果를 나타냈다.

Table 3에서와 같이, 對照群 랫드 肝臟의 카드뮴含量은

**Table 2. Cadmium contents in whole blood of rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks** (unit : μg/g w.w.)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 0.003±0.005 | 0.004±0.005 | 0.003±0.005 | 0.003±0.005 |
| 2 hour | 0.004±0.005 | 0.059±0.051 | 0.069±0.057 | 0.052±0.055 |
| 4 hour | 0.004±0.005 | 1.256±0.338 | 1.254±0.293 | 1.096±0.212 |
| 8 hour | 0.003±0.005 | 0.827±0.211 | 0.747±0.376 | 0.884±0.210 |
| 16 hour | 0.004±0.005 | 0.579±0.141 | 0.485±0.151 | 0.513±0.118 |
| 1 day | 0.004±0.005 | 0.144±0.228 | 0.128±0.036 | 0.123±0.032 |
| 2 day | 0.004±0.005 | 1.140±0.059 | 0.206±0.114 | 1.096±0.117 |
| 4 day | 0.005±0.005 | 1.277±0.225 | 1.227±0.166 | 1.266±0.257 |
| 1 week | 0.005±0.004 | 1.577±0.658 | 1.390±0.434 | 1.405±0.376 |
| 2 week | 0.008±0.016 | 1.708±0.494 | 1.695±0.442 | 1.680±0.448 |
| 4 week | 0.010±0.011 | 2.098±0.657 | 1.973±0.439 | 1.979±0.443 |
| 8 week | 0.020±0.021 | 2.480±0.267 | 2.429±0.290 | 2.493±0.266 |
| 16 week | 0.034±0.011 | 2.917±0.219 | 2.881±0.269 | 2.897±0.228 |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)

**Table 3. Cadmium contents in liver of rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks** (unit : μg/g w.w.)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 0.004±0.005 | 0.006±0.005 | 0.004±0.005 | 0.004±0.005 |
| 2 hour | 0.007±0.005 | 0.093±0.048 | 0.090±0.049 | 0.102±0.064 |
| 4 hour | 0.007±0.008 | 0.685±0.077 | 0.652±0.115 | 0.710±0.089 |
| 8 hour | 0.007±0.008 | 1.108±0.153 | 1.132±0.336 | 1.162±0.335 |
| 16 hour | 0.007±0.008 | 1.995±0.228 | 1.917±0.257 | 1.950±0.207 |
| 1 day | 0.003±0.005 | 2.900±0.339 | 2.935±0.189 | 3.023±0.227 |
| 2 day | 0.007±0.008 | 4.247±0.265 | 4.083±0.238 | 4.180±0.381 |
| 4 day | 0.007±0.008 | 7.607±0.494 | 7.222±0.685 | 7.340±0.871 |
| 1 week | 0.012±0.012 | 13.04±1.63 | 12.33±2.15 | 12.36±2.15 |
| 2 week | 0.032±0.015 | 24.84±4.51 | 23.76±5.64 | 24.60±4.80 |
| 4 week | 0.192±0.044 | 46.40±5.40 | 44.61±5.50 | 45.88±7.23 |
| 8 week | 0.277±0.040 | 86.37±19.02 | 83.75±16.07 | 82.48±19.35 |
| 16 week | 0.377±0.088 | 173.5±19.4 | 165.8±23.6 | 168.9±14.3 |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)

**Table 4. Cadmium contents in kidney of rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks** (unit : μg/g w.w.)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 0.003±0.005 | 0.005±0.005 | 0.003±0.005 | 0.005±0.005 |
| 2 hour | 0.005±0.005 | 0.003±0.005 | 0.005±0.005 | 0.005±0.005 |
| 4 hour | 0.005±0.005 | 0.197±0.069 | 0.187±0.072 | 0.208±0.057 |
| 8 hour | 0.007±0.008 | 0.390±0.068 | 0.355±0.065 | 0.413±0.065 |
| 16 hour | 0.005±0.005 | 0.830±0.096 | 0.765±0.075 | 0.772±0.112 |
| 1 day | 0.007±0.008 | 1.432±0.212 | 1.422±0.201 | 1.442±0.256 |
| 2 day | 0.012±0.016 | 2.828±0.308 | 2.763±0.326 | 2.967±0.359 |
| 4 day | 0.007±0.008 | 4.522±0.605 | 4.525±0.482 | 4.422±0.569 |
| 1 week | 0.015±0.010 | 10.98±0.96 | 10.58±0.59 | 10.21±1.30 |
| 2 week | 0.035±0.019 | 21.98±1.66 | 22.03±2.64 | 20.53±2.09 |
| 4 week | 0.153±0.032 | 45.55±5.73 | 47.94±5.98 | 42.63±6.23 |
| 8 week | 0.355±0.065 | 103.9±18.22 | 109.8±17.00 | 98.0±18.90 |
| 16 week | 0.467±0.101 | 200.9±16.5 | 202.7±14.4 | 195.7±9.7 |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)

**Table 5. Cadmium contents in testis of rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks** (unit : μg/g w.w.)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 0.002±0.004 | 0.004±0.005 | 0.002±0.004 | 0.004±0.005 |
| 2 hour | 0.004±0.005 | 0.006±0.005 | 0.004±0.005 | 0.006±0.005 |
| 4 hour | 0.003±0.005 | 0.037±0.033 | 0.028±0.018 | 0.035±0.211 |
| 8 hour | 0.005±0.008 | 0.083±0.030 | 0.067±0.022 | 0.077±0.037 |
| 16 hour | 0.005±0.005 | 0.115±0.029 | 0.102±0.034 | 0.115±0.052 |
| 1 day | 0.003±0.005 | 0.210±0.260 | 0.183±0.043 | 0.218±0.055 |
| 2 day | 0.004±0.005 | 0.444±0.078 | 0.426±0.082 | 0.446±0.073 |
| 4 day | 0.005±0.005 | 0.805±0.088 | 0.682±0.137 | 0.790±0.145 |
| 1 week | 0.007±0.010 | 1.438±0.655 | 1.297±0.381 | 1.570±0.386 |
| 2 week | 0.028±0.019 | 2.055±0.425 | 1.982±0.297 | 2.187±0.354 |
| 4 week | 0.038±0.015 | 2.747±0.479 | 2.827±0.635 | 3.072±0.280 |
| 8 week | 0.052±0.019 | 3.846±0.438 | 3.704±0.376 | 3.827±0.359 |
| 16 week | 0.072±0.032 | 6.221±0.591 | 5.842±0.545 | 6.055±0.517 |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)

전 실험기간 동안 0.003~0.377 μg/g이었으며, 시간경과에 따라 증가하였다. Cd群은 投與 2시간後 부터 肝臟조직중의 카드뮴含量이 0.093 μg/g으로 증가하였고, 反復投與에 의해 계속 증가하여 投與 16주에는 173.5 μg/g이 檢出되었다. Cd+Dds, Cd+Ra群에서도 投與 後 2시간에 0.09, 0.102 μg/g으로 증가하기 시작하여, 16주에는 165.8, 168.9 μg/g으로서 Cd群과 유사한 카드뮴含量의 증가를 보였다.

Table 4에 腎臟의 카드뮴含量을 제시하였다. 對照群 腎臟의 카드뮴含量은 전 실험기간 동안 0.003~0.467 μg/g이었으며, 시간경과에 따라 腎臟내 카드뮴은 증가하였다. Cd群은 投與 後 4시간부터 腎臟내 카드뮴含量이 증가하기 시작하여(0.197 μg/g), 投與 16주에는 200.9 μg/g의 含量을 보였다. Cd+Dds, Cd+Ra群에서도 投與 後 4시간에 카드뮴含量이 0.187, 0.208 μg/g으로 증가하기 시작하여, 16주에는 165.8, 168.9 μg/g으로 Cd群과 유사한 腎臟의 카드뮴含量 증가를 보였다. Cd+Ra群의 含量 증가가 投與 16주에 195.7 μg/g으로 가장 낮게 나타났고, Cd+Dds群의 腎臟內 카드뮴 含量 증가가 202.7 μg/g으로 가장 두드러졌다.

睾丸의 카드뮴含量을 Table 5에 나타내었다. 對照群의 睾丸 카드뮴含量은 전 실험기간 동안 0.002~0.072 μg/g이었으며, 시간 경과에 따라 증가하는 경향을 보였다.

Cd群에서는 投與 後 4시간에 0.037 μg/g의 카드뮴이 검출된 이후 睾丸의 카드뮴含量이 꾸준히 증가하여 投與 16주에는 6.221 μg/g의 농도를 보였다. Cd+Dds, Cd+Ra群에서도 投與 後 4시간에 0.028, 0.035 μg/g으로 증가하기 시작하여, 16주에는 5.842, 6.055 μg/g으로 Cd群의 농도증가 변화와 유사한 경향을 보였다.

時間經過에 따른 臟器別 카드뮴含量 변화는 각 投與群에서 유사한 경향을 나타냈으므로 Cd群의 결과만을 살펴보면 投與 4시간 후 血中에 1.256 μg/g으로 최고농도에 도달하였으며, 이후 反復投與의 시험물질이 吸收되기 전까지 농

도가 감소하여 24시간 후에는 0.144 μg/g이 되었다. 반복 투여한 시험물질이 吸收되어 2일째의 혈중 카드뮴농도는 1.140 μg/g이었으나, 급격한 증가는 나타나지 않아 16주의 혈중 카드뮴농도는 2.917 μg/g에 머물렀다. 投與 후 2주까지는 肝臟의 카드뮴含量(24.84 μg/g)이 腎臟보다(21.98 μg/g) 높았으나, 4주에는 肝臟 46.40 μg/g, 腎臟 45.55 μg/g으로 비슷하여지고, 8주 부터는 肝臟의 카드뮴含量 86.37 μg/g 보다 腎臟이 103.9 μg/g으로 더 높아지는 것으로 나타났다. 한편, 카드뮴 投與 2주의 睾丸의 카드뮴含量은 6.221 μg/g으로 혈액중 카드뮴含量 1.708 μg/g 보다 높아졌으며 16주에 6.221 μg/g로 계속 증가하였다.

### 血淸의 酵素 變化

肝臟의 손상정도를 표현하는 효소로서 ALT와 AST活性度를 측정하였고, 糖代謝의 영향을 파악하기 위하여 glucose含量을, 腎臟損傷 정도를 알기 위하여 BUN과 creatinine含量을 측정하였다.

ALT活性度를 Table 6에 나타내었다. ALT活性度는 實驗全期間에 걸쳐 對照群은 34.7~44.3 U/*l* 수준을 유지하고 있었으나, Cd群은 4일째에 45.0 U/*l*을 나타내고, 1주후 부터 65.2 U/*l*로서 對照群에 비해 유의한 증가를 보이고($p<0.05$), 投與 2, 4, 8, 16주에도 계속 유의하게 증가하였다($p<0.05$). Cd+Dds, Cd+Ra群에서는 Cd群과 유사한 증가를 보여 投與 1주 후부터 73.0, 60.3 U/*l*로 對照群에 비하여 유의한 증가가 나타났다($p<0.05$).

Table 7에 AST의 活性度를 나타내었다. AST 活性度의 변화는 對照群에서 全 實驗期間 동안 81.7~113.8 U/*l* 정도의 수준을 보였으나, Cd群에서는 1주부터 144.7 U/*l*로 유의한 증가를 보였다($p<0.05$). Cd+Dds群은 Cd群과 유사한 증가를 보여 投與 후 1주부터 146.8 U/*l*로 유의하게 증가하였다($p<0.05$). 그러나, Cd+Ra群에서는 다른 投與群보다 1주일 늦은 投與 2주부터 210.5 U/*l*로 유의한 증가가 나타나($p<0.05$), retinol acetate에 의해 AST의 증가가 1주일 遲延되었다.

Glucose의 혈중농도를 Table 8에 제시하였다. Glucose 血中濃度는 對照群에서 全 實驗期間 동안 104.2~120.8 mg/d*l*였으나, Cd群에서 投與 2주 후부터 glucose 수준이 저하되기 시작하여 8주 후부터는 77.5 mg/d*l*로 유의성 있는 감소가 인정되었다($p<0.05$). Cd+Dds群에서도 投與 8주부터 72.8 mg/d*l*로 유의한 감소를 보였으나($p<0.05$), Cd+Ra群은 16주에 75.3 mg/d*l*로 유의한 감소를 보여($p<0.05$), 카드뮴에 의한 glucose의 농도 감소가 retinol acetate에 의해 遲延效果를 보였다.

카드뮴이 ALT, AST活性度에 변화를 주는 것은 카드뮴을 1주동안 投與하였을 때였으며, glucose含量은 投與 8주에 유의한 감소를 보였다($p<0.05$). 카드뮴投與 1주일 이후에 肝細胞에 영향을 미치며 8주 후부터는 糖代謝에도 영향을 나타내는 것으로 나타났다. Diallyl disulfide, retinol ace-

**Table 6. Serum ALT activity in rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks**

(unit : U/*l*)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 36.2±7.88 | 33.3±8.59 | 33.0±18.68 | 33.8±14.73 |
| 2 hour | 37.0±12.49 | 39.0±8.88 | 34.7±9.81 | 29.3±8.57 |
| 4 hour | 38.3±9.46 | 30.2±8.80 | 38.2±12.37 | 35.5±20.35 |
| 8 hour | 40.5±9.20 | 36.3±8.33 | 37.8±8.33 | 35.3±7.37 |
| 16 hour | 36.0±10.00 | 33.5±14.00 | 39.5±11.55 | 35.8±4.96 |
| 1 day | 40.5±9.50 | 35.0±11.38 | 44.7±20.4 | 35.2±13.14 |
| 2 day | 34.7±7.99 | 39.5±7.77 | 38.2±9.60 | 35.0±10.08 |
| 4 day | 40.3±10.58 | 45.0±11.76 | 37.0±9.40 | 38.8±10.82 |
| 1 week | 44.2±8.93 | 65.2±15.82* | 73.0±11.44* | 60.3±14.51* |
| 2 week | 41.7±12.45 | 91.3±14.82* | 85.2±30.62* | 84.2±33.14* |
| 4 week | 44.3±9.24 | 173.2±24.25* | 152.2±16.44* | 150.8±15.80* |
| 8 week | 37.2±10.92 | 194.5±43.70* | 166.2±37.81* | 184.2±47.41* |
| 16 week | 41.8±10.13 | 198.3±50.71* | 189.31±40.19* | 187.5±52.14* |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)
*: statistically different from control group ($p<0.05$)

**Table 7. Serum ALT activity in rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks**

(unit : U/*l*)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 93.2±22.18 | 79.5±25.59 | 82.0±33.94 | 80.7±18.06 |
| 2 hour | 81.7±17.40 | 81.3±14.50 | 88.5±19.10 | 87.5±18.56 |
| 4 hour | 93.3±23.87 | 93.0±20.26 | 90.5±21.73 | 86.5±22.10 |
| 8 hour | 88.7±17.80 | 90.3±22.40 | 89.5±21.12 | 91.3±20.03 |
| 16 hour | 95.0±26.88 | 96.8±21.21 | 90.7±18.04 | 86.0±19.72 |
| 1 day | 106.5±18.71 | 98.7±28.21 | 103.5±28.35 | 100.5±18.69 |
| 2 day | 90.3±16.82 | 96.7±23.41 | 95.2±19.77 | 99.5±19.09 |
| 4 day | 94.8±20.36 | 99.8±40.29 | 107.3±20.98 | 95.8±13.51 |
| 1 week | 105.0±28.04 | 144.7±31.47* | 146.8±44.36* | 135.5±13.51 |
| 2 week | 108.8±25.31 | 184.7±33.22* | 202.2±40.68* | 182.5±45.37 |
| 4 week | 99.8±16.80 | 235.5±70.15* | 217.8±95.81* | 210.5±88.41* |
| 8 week | 109.8±26.51 | 246.3±101.0* | 250.5±80.49* | 243.8±106.9* |
| 16 week | 113.8±17.59 | 307.3±91.84* | 305.0±85.87* | 296.3±88.02* |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)
*: statistically different from control group ($p<0.05$)

**Table 8. Serum glucose contents in rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks** (unit : mg/d*l*)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 109.0±21.18 | 108.3±15.81 | 109.8±14.96 | 112.2±16.69 |
| 2 hour | 113.2±16.24 | 124.8±10.94 | 107.3±15.06 | 104.0±24.13 |
| 4 hour | 104.2±16.76 | 110.7±24.90 | 114.2±25.86 | 114.7±24.89 |
| 8 hour | 120.7±16.91 | 109.8±25.89 | 112.7±23.76 | 102.3±23.99 |
| 16 hour | 113.2±20.32 | 106.3±18.44 | 116.8±27.02 | 115.2±35.70 |
| 1 day | 108.3±20.26 | 108.5±30.59 | 112.2±25.26 | 114.0±34.79 |
| 2 day | 111.2±19.79 | 112.2±22.36 | 115.2±26.59 | 105.5±32.05 |
| 4 day | 113.0±19.48 | 108.5±38.25 | 119.7±25.85 | 100.5±22.91 |
| 1 week | 118.3±13.14 | 123.7±15.65 | 102.2±31.03 | 110.5±31.84 |
| 2 week | 114.2±17.13 | 103.7±17.52 | 107.7±12.79 | 106.2±19.48 |
| 4 week | 115.2±23.72 | 101.2±16.07 | 101.0±22.93 | 101.3±16.82 |
| 8 week | 113.8±21.93 | 77.5±11.33* | 72.8±22.25* | 80.2±14.39 |
| 16 week | 120.8±30.29 | 74.7±9.69* | 71.7±9.85* | 75.3±13.40* |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)
*: statistically different from control group ($p<0.05$)

**Table 9. Serum BUN contents in rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks** (unit : mg/d*l*)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 18.0±3.41 | 18.7±3.39 | 18.2±4.71 | 18.5±3.27 |
| 2 hour | 19.7±2.16 | 18.8±4.40 | 19.0±2.00 | 18.5±1.87 |
| 4 hour | 18.7±3.27 | 18.8±2.86 | 18.3±3.61 | 19.0±3.52 |
| 8 hour | 18.5±1.87 | 18.2±3.06 | 18.8±3.19 | 20.0±8.25 |
| 16 hour | 19.2±3.31 | 18.7±3.27 | 19.0±3.63 | 19.2±3.97 |
| 1 day | 18.5±2.26 | 18.7±2.16 | 18.8±2.48 | 20.5±2.66 |
| 2 day | 19.0±2.53 | 22.0±3.58 | 19.5±3.08 | 20.8±3.31 |
| 4 day | 18.8±5.89 | 19.4±2.97 | 19.2±2.32 | 19.0±3.39 |
| 1 week | 20.3±2.94 | 20.8±3.97 | 19.2±2.23 | 20.5±2.95 |
| 2 week | 19.3±1.86 | 21.8±3.43 | 22.2±4.71 | 21.5±3.94 |
| 4 week | 19.3±1.97 | 24.8±4.54* | 25.8±4.02* | 23.5±6.22 |
| 8 week | 19.7±3.39 | 28.5±4.64* | 31.2±2.86* | 24.7±5.61* |
| 16 week | 19.7±2.16 | 33.2±3.66* | 35.5±6.75* | 27.3±3.56*# |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)
*: statistically different from control group ($p<0.05$)
#: statistically different from Cd group ($p<0.05$)

**Table 10. Serum creatinine contents in rats treated with cadmium, diallyl disufide and retinol acetate for 16 weeks** (unit : mg/d*l*)

| Time\ Group | Control | Cd | Cd+Dds | Cd+Ra |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 0.78±0.15 | 0.73±0.12 | 0.76±0.16 | 0.80±0.18 |
| 2 hour | 0.68±0.15 | 0.77±0.16 | 0.73±0.15 | 0.75±0.23 |
| 4 hour | 0.70±0.14 | 0.80±0.14 | 0.74±0.13 | 0.80±0.18 |
| 8 hour | 0.77±0.08 | 0.75±0.19 | 0.70±0.13 | 0.77±0.18 |
| 16 hour | 0.68±0.12 | 0.72±0.21 | 0.73±0.23 | 0.70±0.21 |
| 1 day | 0.73±0.21 | 0.80±0.14 | 0.76±0.15 | 0.80±0.18 |
| 2 day | 0.73±0.19 | 0.75±0.21 | 0.72±0.12 | 0.77±0.20 |
| 4 day | 0.73±0.08 | 0.77±0.22 | 0.75±0.23 | 0.73±0.23 |
| 1 week | 0.77±0.19 | 0.75±0.23 | 0.73±0.18 | 0.77±0.22 |
| 2 week | 0.73±0.19 | 0.77±0.18 | 0.82±0.12 | 0.78±0.19 |
| 4 week | 0.72±0.22 | 0.88±0.23 | 0.92±0.21 | 0.83±0.19 |
| 8 week | 0.77±0.14 | 1.13±0.22* | 1.20±0.41* | 0.98±0.13* |
| 16 week | 0.78±0.17 | 1.27±0.36* | 1.38±0.15* | 1.02±0.16*# |

Each value represents the mean±S.D.
Cd: $CdCl_2$ 20 mg/kg (6 times a week)
Dds: diallyl disulfide 50 mg/kg (3 times a week)
Ra: retinol acetate 50,000 IU/kg (3 times a week)
*: statistically different from control group ($p<0.05$)
#: statistically different from Cd group ($p<0.05$)

tate가 카드뮴 위해성을 효과적으로 防禦하지는 못하지만, retinol acetate를 投與한 群에서 AST活性度는 다른 投與群보다 1주 늦게 유의한 증가를 보였고($p<0.05$), glucose는 4주 늦게 유의한 감소를 보여 retinol acetate에 의한 遲延效果를 보였다.

腎臟損傷 指標의 하나로서 측정한 혈중 BUN농도를 Table 9에 나타내었다. 전 실험기간동안 對照群에서 18.0~20.3 mg/d*l*의 수준을 보였으나, Cd 投與群에서는 投與 2주 후부터 21.8 mg/d*l*로 증가하여, 4주 후부터 24.8 mg/d*l*로 증가하여 통계적 유의성이 인정되었으며($p<0.05$), 16주까지 33.2 mg/d*l*로 지속적으로 증가하였다. Cd+Dds群은 4주에 25.8 mg/d*l*로 對照群에 비해 유의한 증가를 보였다($p<0.05$). Cd+Ra群은 유의한 증가가 Cd群 보다 4주 늦게 나타나서 8주 후부터 24.7 mg/d*l*로 유의함이 인정되었으며($p<0.05$), 投與 16주에는 Cd群의 33.2 mg/d*l*에 비하여 Cd+Ra群에서 27.3 mg/d*l*로 유의하게 낮은 결과를 보였다. 따라서, retinol acetate投與는 카드뮴에 의한 腎臟손상에 輕減效果가 있는 것으로 나타났다.

血中 creatinine濃度를 Table 10에 제시하였다. 對照群에서 전 실험기간동안 0.68~0.78 mg/d*l*의 분포를 보였으나, Cd 群에서 4주 후부터 0.88 mg/d*l*로 증가하기 시작해서 8주 후부터 1.13 mg/d*l*로 증가의 유의성이 인정되었다($p<0.05$). Cd+Dds, Cd+Ra群도 4주 후부터 0.92, 0.83 mg/d*l*로 증가하여 8주 후부터 1.20, 0.98 mg/d*l*로 증가의 유의성이 인정되었다($p<0.05$). 다른 시험물질 投與群에 비해 Cd+Ra群은 投與 16주에 1.02 mg/d*l*로 Cd群의 1.27 mg/d*l*와 比較하여 유

의하게 낮은 결과를 보여($p<0.05$), 카드뮴 투여에 대한 腎臟損傷이 retinol acetate 投與에 의해 輕減效果가 있음을 보였다.

카드뮴投與에 의해 BUN, creatinine의 유의한 변화가 나타나는 시기는 投與 後 8주였으며, retinol acetate에 의해 카드뮴의 腎臟손상이 輕減되는 효과를 나타냈다.

### 病理組織學的 變化

실험에 이용된 모든 랫드의 肝臟, 腎臟을 肉眼的으로 관찰한 결과, 對照群을 포함한 모든 投與群에서 特異한 所見이 관찰되지 않았다. 肝臟과 腎臟은 정상적인 色調 및 硬度를 가지고 있었으며, 각 장기의 표면 및 割斷面에 별다른 변화가 관찰되지 않았다. 睾丸의 경우, Cd+Dds群중 8주와 16주 투여 랫드에서 각 1마리가 兩側性으로 萎縮되었고, 색깔은 연한 灰白色調였으며, 硬度가 단단하였으나, 그 외의 對照群 및 試驗群에서는 이상소견이 관찰되지 않았다.

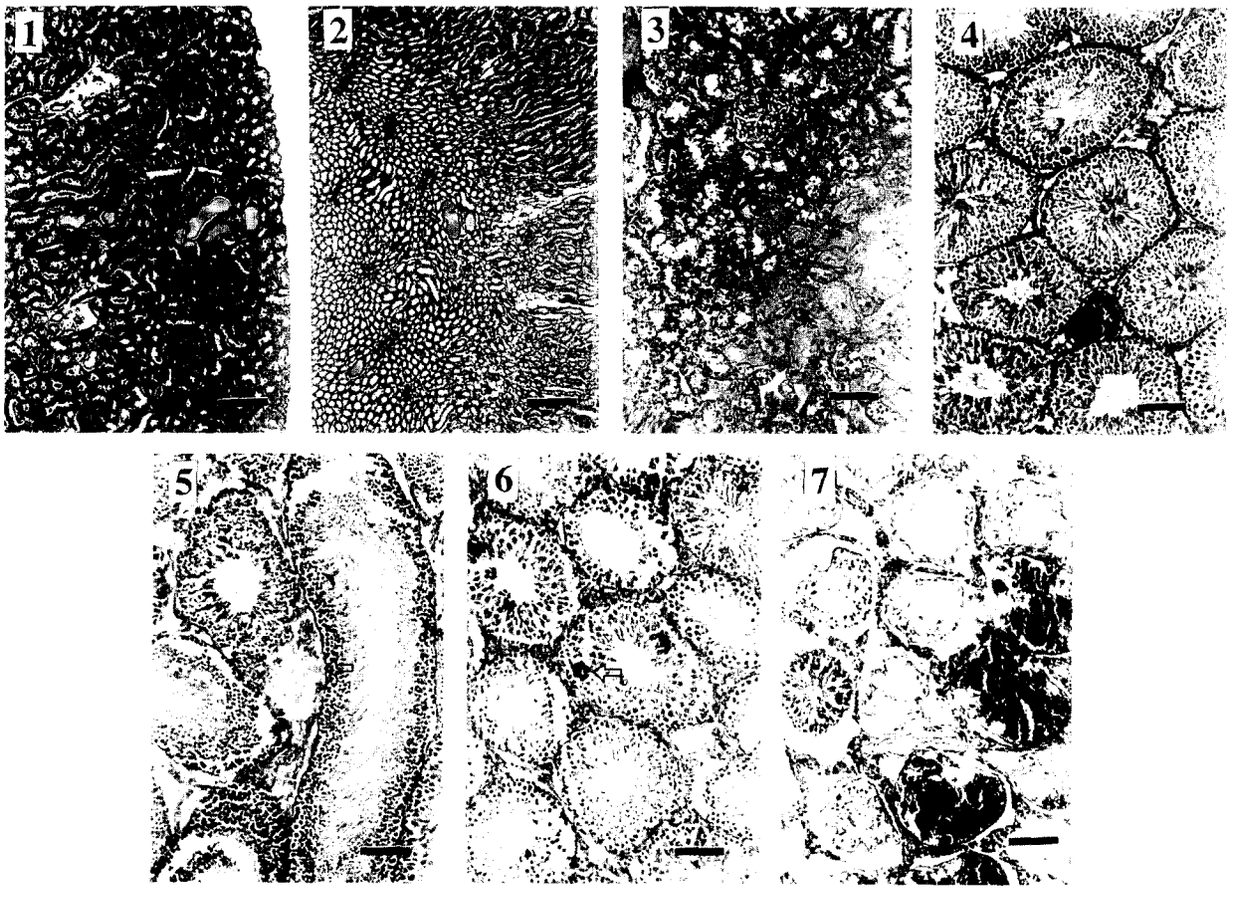
병리조직학적 관찰소견과 변화정도를 Table 11에 나타내었으며, 소견의 사진과 설명은 PM 1-6에 제시하였다. 對照群 및 모든 試驗群의 肝臟에서는 특이한 病理組織學的 所見이 관찰되지 않았다. 對照群 및 카드뮴投與 4주까지는 腎臟의 皮質, 髓質 및 腎盂 전반에 걸쳐 特異한 病理組織學的 소견이 관찰되지 않았다. Cd群 8주投與 랫드에서 腎細尿管의 內腔에 好酸性顆粒이나 尿圓柱가 관찰되었으며, 腎臟上皮細胞는 일부 腫大되어 있으나, 絲球體 및 集合管에서는 별다른 변화가 관찰되지 않았다. 16주 投與의 경우 8주 投與群보다 정도가 심한 소견이 관찰되었다. Cd+Dds群은 다른 試驗群에 비하여 細尿管 上皮細胞의 變性 및 壞死가 두드러져, 上皮細胞가 混濁腫脹되거나 空砲變性되어 細尿管 管腔이 좁아져 있었다. 壞死된 細尿管 上皮細胞는 細胞質의 好酸性이 증가하였고, 核은 濃縮되어 있었으며, 基底膜으로부터 탈락되어 腎症(nephrosis) 소견을 보이고 있었으며, 16주 投與群의 경우에는 8주 投與群보다 심한 腎症所見을 보이고 있었다. Cd+Ra群의 경우, Cd群과 유사한 조직학적 소견이 관찰되었으며, 好酸性顆粒도 腎細尿管의 內腔에는 간혹 관찰되었다. 睾丸에서 對照群은 특이한 병리 · 조직학적 소견이 관찰되지 않았으나, 投與 後 8주에 부검한 Cd群은 精細管(seminiferous tubule) 사이의 間質組織은 好酸性無機物(amorphic eosinophilic fluid)에 의해 확장되어 있으며, 주위 精細管이 심하게 위축되어 있었다. 精細管내의 精祖細胞(spermatogonia), 精母細胞(spermatocyte) 및 精子細胞는 精細管에 따라 각기 다른 정도의 變性 및 壞死가 관찰되었다. 對照群에 비해 精細管에 따라 일부 精祖細胞 및 세르톨리細胞(Sertoli cell)만 관찰된 것도 있었으며, 石灰沈着이 同伴된 精細管도 관찰되었다. Cd+Dds群은 일반적인 조직학적 소견은 Cd群과 비슷했으나 精細管 變性 및 壞死 정도는 Cd群보다 미약하였다. Cd+Ra群에서는 精細管에서 Cd群, Cd+Dds群에 비해서 미약한 精子形成細胞의 變性 壞死가 관찰되었으며, 精細管이 萎縮된 소견도 관찰되었다.

카드뮴 20 mg/kg 投與에 의해 病理學的인 변화가 나타날 때까지는 腎臟과 睾丸에서 모두 8주가 소요되었으며, 肝臟

**Table 11. Pathological findings in liver, kidney, testis of rats treated with cadmium, diallyl disulfide and retinol acetate for 16 weeks**

| | Advent of pathologic changes | | | Pathologic findings | | | Degree | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Liver | Kidney | Testis | Liver | Kidney | Testis | Kidney | Testis |
| Control | – | – | – | – | – | | – | – |
| Cd | – | 8 wks | 8 wks | – | acidic globule or cast | ○ accumulation of eosinophilic fluid in | ++ | +++ |
| | | | | – | in the tubule | interstitum of seminiferous tubule | | |
| | | | | – | | ○ severe atrophy of seminiferous tubule | | |
| | | | | | | ○ rarity of mature sperm | | |
| | | | | | | ○ calcification | | |
| Cd+Dds | – | 8 wks | 8 wks | | tubule epithelium necrosis | less severe than Cd group | +++ | ++ |
| Cd+Ra | | | | | and degeneration | | | |
| | – | 8 wks | 8 wks | | acidic globule or cast | less severe than Dds group on | + | + |
| | | | | | in the tubule | degeneration necrosis/tubule atrophy | | |

+++: very severe pathological chanes
++: severe pathological changes
+: moderate pathological changes
+/−: mild pathological changes
Cd: Cadmium chloride 20 mg/kg in distilled water
Dds: Diallyl disulfide (50 mg/kg in cron oil p.o., 3 times a week)
Ra: Retinol acetate 950,000 Iu/kg in corn oil p.o., 3 times a week)




**PM 1. Homogenous eosinophilic material is accumulated in cortical tubular lumens of rat treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 16 weeks (arrows). Bar : 97 μm**

**PM 2. Homogenous eosinophilic material is seen in lumens of collecting tubules of medulla in rat treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 16 weeks (arrows). Bar : 97 μm.**

**PM 3. Degenerated or necrotized tubular cells are observed in cortex in rat treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg and diallyl disufide 50 mg/kg for 16 weeks. Bar : 38.8 μm.**

**PM 4. Normal structure of seminiferous tubules in control animals. Bar : 38.8 μm.**

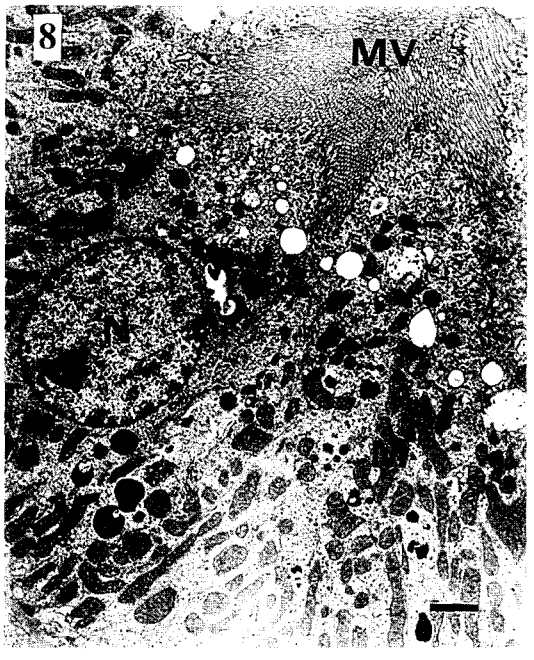
**PM 5. Degenerated seminiferous tubules. Homogenous eosinophilic material is seen in interstitial tissue of rat treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 16weeks (arrow). Bar : 38.8 μm.**

**PM 6. Calcium deposits are seen in degenerated seminiferous tubules of rat treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 16 weeks (arrows). Bar : 38.8 μm.**

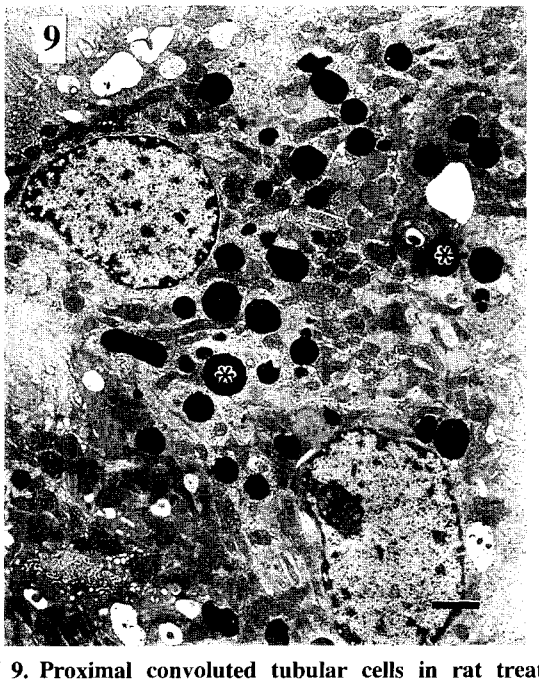
**PM 7. The tubules show severe atrophy and calcification in rat treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 16 weeks. Bar : 38.8 μm.**

에서는 투여 16주까지 病變이 관찰되지 않았다. Diallyl disulfide, retinol acetate 投與에 의해서 睾丸의 病變은 豫防 혹은 輕減되었으며, 腎臟의 病變은 diallyl disulfide 投與에 의해 慢性毒性의 진행이 빨라지는 것으로 나타났다.

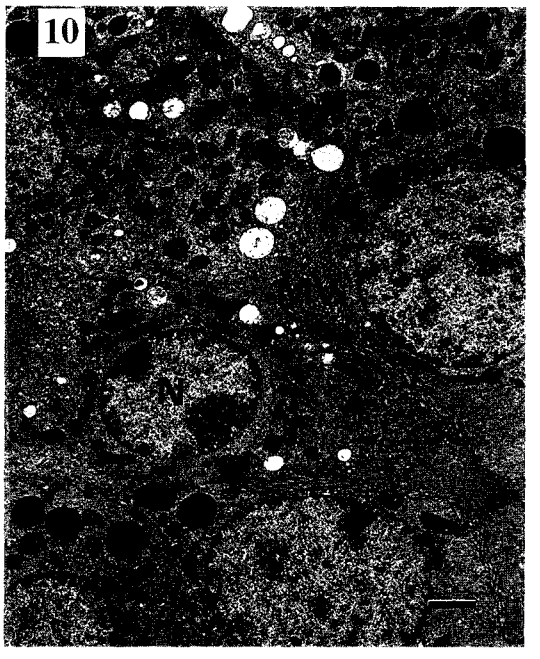
전자현미경 소견은 腎臟을 중심으로 관찰하였다. 카드뮴 2주 投與한 腎臟의 近位 細尿管 上皮細胞에서 細胞質이 腫脹되어 管腔이 좁아져 있는 소견이 관찰되었고(EM 8), 미토콘드리아가 약간 變性된 소견과 均質한 蛋白質 小球의 숫자가 증가된 소견이 관찰되었다(EM 9). 역시 카드뮴을 2주 投與한 腎臟의 近位曲細尿管에서 細胞質이 약간 腫脹되어 있고 蛋白質 소구가 보이면서 細尿管 구조의 분별이 어려울 정도의 변화가 관찰되었다(EM 10). 카드뮴을 4주간 投與한 랫드 腎臟에서 毛細血管內皮細胞가 약간 腫脹되어 있는 소견이 관찰되었으며(EM 11), 細胞質 내에 空砲形成이 관찰되었고, 細尿管 上皮의 필라멘트양 성분이 증가함이 관찰되었다(EM 12). 카드뮴을 8주간 投與한 랫드 腎臟의 광학현미경소견에서 細尿管 관강내에 차있는 것으로 관찰된 부위를 조사한 결과, 變性된 上皮細胞가 細尿管 管腔內




**EM 8. Proximal convoluted tubule of rat treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 2 weeks. The cells of the tubule show swelling of cytoplasm and the lumen is narrowed (×5120).**
MV: microvilli, M: mitochondria, N: nucleus, Bar: 0.2 μm.

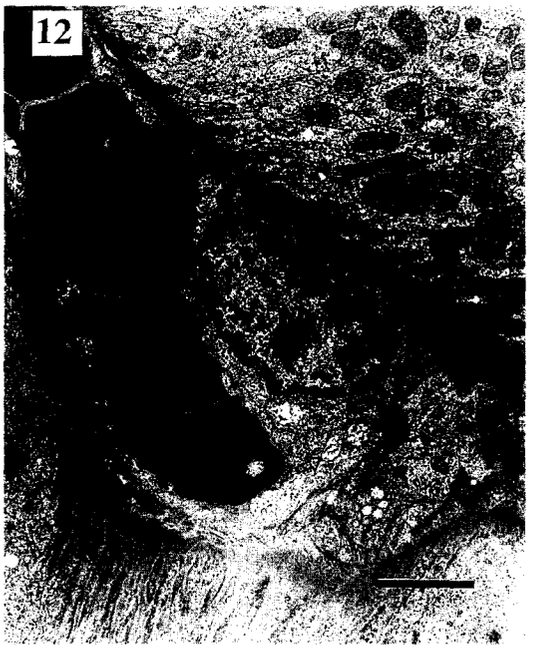



**EM 9. Proximal convoluted tubular cells in rat treated with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 2 weeks. The number of slightly degenerated mitochondria and homogeneous protein globules are increased (×51200.**
Bar : 0.2 μm.




**EM 10. Proximal convoluted tubule of rat dosed with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 2 weeks. Tubular architecture is not well preserved. The cytoplasm show mild swelling with some protein globules (×5120).**
MV: microvilli, N: nucleus, Bar: 0.2 μm.

**EM 11. Capillary endothelial cell in kidney of rat dosed with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 4 weeks. Capillary endothelial cell (arrow) is swollen with electron lucent cytoplasm (×5120).**
N: nucleus of capillary endothelial cell, F: fibrocyte with collagen fiber, Bar: 0.2 μm.




**EM 12. Capillary endothelial cell of kidney in rat dosed with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 4 weeks. The endothelium is showing electron lucent cytoplasmic vacuoles (empty arrows). The filamentous components of tubular epithelium are increased (arrows) (×6880).**
N: nucleus of endothelium, Bar: 0.285 μm.

**EM 13. Distal tubules of rat dosed with $CdCl_2$ 20 mg/kg for 8 weeks. Degenerated epithelial cells are accumulated in lumen (arrows). Electron lucency of cytoplasm dilated nuclear outer membrane, dilated ER and small vacuole are observed. Mitochondria of tubular epithelium are slightly swollen (×5120).**
N: nucleus of epithelium, empty arrow: basement membrane, Bar: 0.2 μm.

에 차있는 소견임을 확인하였고, 확장된 核外膜, 內形質細網 小槽의 확장과 작은 공포들이 관찰되었다. 細尿管 上皮細胞의 미토콘드리아가 약간 腫脹된 변화도 관찰되었다 (EM 13).

### $HSP_{70}$ 發顯의 檢出

카드뮴投與에 의한 $HSP_{70}$의 發顯을 Fig. 1에 나타내었다. 카드뮴投與群의 肝臟에서는 카드뮴 投與 후 4시간부터 $HSP_{70}$의 發顯 증가가 16시간까지 계속되었고, 이후 약간 감소한 상태로 72시간까지 계속 유지되었다. 腎臟에서는 投與 후 2시간에 $HSP_{70}$의 發顯이 증가하여 4시간에 최고가 되고, 이후 감소하나 24시간까지는 對照群 수준보다 發顯이 증가된 결과를 보였다. 睾丸에서는 腎臟에서와 같이 投與 후 2시간에 $HSP_{70}$의 發顯이 증가되며, 48시간 후까지 증가된 상태였으나, 72시간 이후에는 원상태 수준으로 회복되었다.

Cd+Dds群 肝臟에서는 投與 後 2시간부터 $HSP_{70}$의 發顯이 增加하여 16시간까지 계속 증가하고, 이후 약간 감소하나 對照群 수준보다는 높은 發顯상태를 보였다. 腎臟에서는 投與 후 4시간부터 $HSP_{70}$의 發顯이 증가되어 48시간까지 증가되었다. 睾丸에서는 投與 후 2시간부터 $HSP_{70}$의 發顯이 증가하여 16시간까지 증가되었고, 24시간 후에는 對照群 수준으로 회복되었다.

Cd+Ra群의 肝臟에서는 投與 2시간 후부터 $HSP_{70}$의 發顯이 증가되어 48시간까지 증가되었으며, 72시간부터 원상태로 회복되었다. 腎臟에서는 投與 4시간 후부터 $HSP_{70}$의 發顯이 증가되어 24시간까지 증가되었으며, 이후부터 원상태로 회복됨을 알 수 있었다. 睾丸에서는 投與後 2시간부터 $HSP_{70}$의 發顯이 증가되어 24시간까지 계속 많아졌고, 48시간 후부터 원상태 수준으로 회복되었다.

$HSP_{70}$의 發顯增加가 나타나는 시기는 카드뮴 暴露후 肝臟에서 최소 4시간, 腎臟과 睾丸에서 2시간으로 肝臟보다 腎臟과 睾丸에서 HSP 반응이 신속하게 나타났다. 한편, 腎臟에서는 카드뮴 投與에 의해 2시간에 HSP의 發顯이 증가하였으며, diallyl disufide 혹은 retinol acetate 投與에 의해 최소 4시간 후에 HSP의 發顯이 증가되어 HSP 반응이 늦어졌다. 그러나, 전체적으로 HSP 반응은 카드뮴 投與후 2~4시간 이내에 肝臟, 腎臟, 睾丸에서 나타나는 것으로 밝혀졌다.

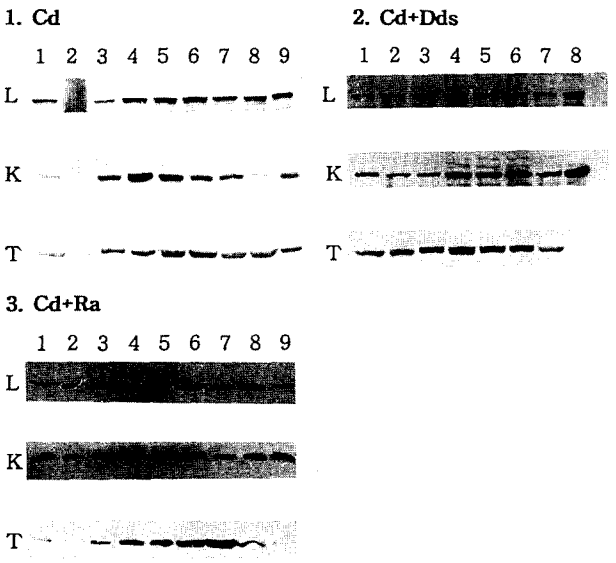



**Fig. 1. Immunoblots analysis of $HSP_{70}$ induction in rat's organs treated with cadmium, diallyl disulfide and retinol acetate.**

L: liver, K: kidney, T: testis.

Lane 1: control, 2: 1 hour, 3: 2 hours, 4: 4 hours, 5: 8 hours, 6: 16 hours, 7: 24 hours, 8: 48 hours, 9: 72 hours after.

$HSP_{70}$ 抗體를 이용한 免疫組織化學的 검사결과 카드뮴投與에 의해 肝臟에서 陽性反應은 나타나지 않았으며, 腎臟의 경우는 絲球體와 일부 細尿管 上皮細胞에서 양성반응을 보였다. 陽性反應을 보인 슬라이드는 모두 投與 후 24시간의 조직 표본이었다. 睾丸은 間質組織과 精細管內의 精子가 모두 陽性으로 나타났는데, 이는 對照群의 것과 구분할 수 없을 정도였으므로 投與에 의해 새롭게 發顯된 것은 아니었다. 肝臟의 HSP 發顯은 많지 않았으며, 腎臟은 HSP 發顯部位가 絲球體, 細尿管上皮細胞였었고, 睾丸은 정상적으로도 상당히 많은 양의 HSP가 發顯되고 있었다.

## 考 察

### 各 臟器組織內의 카드뮴含量

본 실험에서 $CdCl_2$로서 20 mg/kg을 16주간 經口投與하였을 때, 16주 후 血液中의 카드뮴 含量이 2.917 μg/g, 腎臟에서 200.9 μg/g, 睾丸에서 6.221 μg/g이 검출되었으며, 投與 8주부터 카드뮴含量이 肝臟보다 腎臟에서 더 높았다. 또한 對照群에서 肝臟의 카드뮴含量은 16주 0.377 μg/g, 腎臟 0.467 μg/g의 결과를 나타냈다. 이 對照群의 肝臟과 腎臟의 카드뮴 수준은 국내에서 발표된 다른 논문의 對照群 肝臟의 카드뮴含量 0.09~0.22 μg/g 보다 16주 이후에는 약간 높았으며, 腎臟의 다른 논문의 결과인 0.25~0.46 μg/g의 범위[23]내에 포함되었다.

마우스와 랫드의 카드뮴 腸管吸收率은 2~10% 정도인데, 사료중의 Ca, Fe, Zn, Cu含量이 적으면 카드뮴의 吸收가 증가한다고 보고되어 있다.[24] 그러나, 본 실험에서 사용한 飼料의 成分은 국제규격에 적합한 금속含量을 보였으므로, 이들 성분에 의한 吸收率의 영향은 없었을 것으로 사료된다.

카드뮴은 投與후 초기에는 血漿의 카드뮴농도가 높으나, 이후에 血球로 이동하여 혈장쪽은 낮아지고 혈구의 농도가 증가한다고 보고 되었다.[17] Friberg 등[17]은 $CdCl_2$ 0.5 mg/kg을 14주 동안 피하주사했을때 혈장의 카드뮴수준이 10, 14주에 증가하였으며, 이 시기가 肝臟, 腎臟의 카드뮴含量이 낮아지며 蛋白尿가 나타나는 시기와 일치하였고, 혈장내의 농도증가는 肝臟으로부터 metallothionein(MT) 結合된 카드뮴이 유리되었기 때문이라고 보고하였다.

吸收된 카드뮴은 혈류를 타고 肝臟으로 이동하고, 상대적으로 적은 量이 腎臟으로 간다. 시간경과와 함께 肝臟으로 吸收된 카드뮴은 腎臟으로의 再分配가 일어난다. 카드뮴 동위원소를 이용한 실험에서 단회 投與時 초기농도는 肝臟이 높았으나 1개월째 두 장기의 농도가 같아졌으며, 이후부터는 腎臟의 농도가 肝臟의 농도보다 높아지기 시작하였고, 睾丸에서는 1회 經口投與에 의해 吸收되는 量은 매우 적었다고 보고되었다.[25,26] 따라서, 본 실험에서 腎臟의 카드뮴 농도가 肝臟의 농도보다 높아지는 시기가 1개월보다 遲延된 8주 이후인 것은, 反復投與에 의해 肝臟의 농도가 높은 농도로 계속 유지되었기 때문인 것으로 생각된다.

Nordberg 등[3]은 $CdNO_2$을 랫드에 0.75 mg Cd/kg(주당 3일 5~6개월)을 腹腔注射하여 3개월 후에 肝臟에 카드뮴 含量이 최고 350 mg/kg이었으며, 腎臟은 4개월 후에 250 mg/kg이 되었다고 보고하고 있다. 토끼에 $CdCl_2$ 0.25 mg/kg을 주당 5일 동안 11~29주간 皮下注射 하였을때, 17주 후 肝臟과 腎皮質의 카드뮴 농도는 400~450 mg/kg이었으며, 17주 이후의 暴露에서는 더 이상 증가하지 않았으며 오히려 감소하였다고 보고된 바 있으나, Nomiyama 등[17]은 원숭이의 경우 간장의 카드뮴 臨界濃度는 210 μg/g이라고 보고하였다. 또한, Condron 등[27]은 100 ppm $CdCl_2$을 飮用水로 39주간 投與하였을때 腎臟의 축적량이 102 μg/g이었다고 보고하였다. 日本人에 대한 카드뮴의 生物學的 半減期는 肝臟 7년, 腎臟 17년이었으며, 生物學的 半減期는 投與量이 많아지면 더 짧아진다고 보고되고 있다. 사람에게 있어 정상적인 생활에서의 暴露는 腎臟에 최고농도가 40~50세, 肝臟 30세에 나타나며, 50세의 腎皮質 농도는 肝臟의 10~30배 가량 높은 것으로 보고되었다.[1,17]

한편, 본 실험에서 diallyl disulfide 혹은 retinol acetate를

카드뮴投與에 앞서 投與한 결과, 全血, 肝臟, 腎臟 및 睾丸에서의 카드뮴 含量에 변화를 가져오지 못하였다. 李 등[28]은 마늘의 카드뮴에 대한 防禦效果를 인정하였는데, 자연산 마늘을 사료중에 섞어 섭취케 하여 카드뮴과 마늘의 주요성분이 不溶性鹽을 형성하여 吸收를 妨害함으로써 肝臟, 腎臟 및 睾丸의 카드뮴含量이 감소하였다고 보고하고 있다. 그러나, diallyl disulfide는 吸收되어 膽汁排泄과 腎臟排泄을 하면서 肝臟과 腎臟에서 카드뮴과 結合하고 있으므로[29,30] 각 장기중의 농도에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 추측되며, 카드뮴 농도감소 효과가 예상되었던 retinol acetate도 上皮細胞, 粘膜의 再生, 分化에 관여하므로[31] 카드뮴의 吸收·排泄에는 큰 영향을 미치지 않았던 것으로 여겨진다.

### 血淸中 酵素의 變化

본 실험에서는 $CdCl_2$로서 20 mg/kg을 16주간 經口投與하였을때 血淸중의 ALT, AST活性度는 投與 1주 후부터 유의한 증가를 보여 16주에는 ALT 198.3~187.5 U/*l*, AST 307.3~296.3 U/*l*의 수준까지 증가하였다. ALT, AST활성도는 diallyl disulfide 혹은 retinol acetate에 의해 영향을 받지 않으나, retinol acetate에 의해서 AST活性度의 유의한 증가가 1주일 늦게 나타난 결과를 보였다($p<0.05$). Glucose는 8주 후부터 유의한 감소를 보였으며, 16주에는 70.2~75.3 mg/d*l*의 수준을 보였다. Glucose함량은 diallyl disulfide 혹은 retinol acetate에 의해 영향을 받지 않으나, retinol acetate에 의해 유의한 감소가 8주 늦게 나타나는 결과를 보였다.

Nordberg 등[3]은 $CdCl_2$ 0.25 mg/kg을 토끼에 주 5회 피하주사하였을 때 17주에 血淸 AST活性度가 상승하였으며, 이때 肝臟의 카드뮴 농도가 450 μg/g이었다고 보고하여, 본 실험에서 혈청 AST활성도의 증가가 나타난 시기의 肝臟 카드뮴 농도 246.3 μg/g과 차이를 보였다. 木村2,170은 2 mg/kg의 카드뮴을 주 6회 2주간 피하주사하였을때 血淸 AST活性度가 上昇하였다고 보고하였다.

본 실험에서는 $CdCl_2$로서 20 mg/kg을 16주간 經口 投與하였을 때 血淸중의 BUN은 投與 4주부터, creatinine은 8주부터 유의한 변화가 나타났으며, retinol acetate에 의해 BUN, creatinine 혈중농도는 카드뮴 16주 投與群에 비하여 유의하게 감소하여 카드뮴의 毒性이 輕減되는 결과를 나타냈다($p<0.05$).

Nomiyama 등[17]도 토끼에 1.5 mg/kg의 카드뮴을 45일간 연속 피하주사하였을 때 9일에 뇨중 아미노산과 함께 AST 排泄量이 증가하였고, 300 μg/g 카드뮴을 54주간 投與했을 때 16주에 뇨중 아미노산, ALP, AST, ALT 排泄量이 증가하였다고 보고하였다. 단백뇨가 나타나는 랫드의 腎皮質의 카드뮴臨界濃度는 220~260 μg/g, 병리학적 변화가 나타나는 腎皮質의 카드뮴 임계농도는 56~400 μg/g이었다고 보고하였다.[32] 한편, 본 실험에서 병리학적 변화가 나타나는 腎臟의 카드뮴농도는 103.9 μg/g으로 Nomiyama 등의 결과와 같은 범위에 속하였다(Table 12, 13).

### 病理組織學的 變化

본 실험에서 $CdCl_2$ 20 mg/kg을 16주동안 投與했을때, 8주부터 腎臟 細尿管 上皮細胞의 壞死를 포함한 變性이 나타났고, 睾丸에서도 投與 8주부터 精細管의 變性이 나타났다. 電子顯微鏡 소견은 投與 8주부터 細尿管 細胞質 腫脹, 蛋白質小球의 증가, 미토콘드리아의 變性, 毛細血管 內皮細胞의 腫脹과 空砲形成이 나타났다.

카드뮴 投與에 의한 첫번째 標的臟器는 肝臟이지만 카드뮴 吸收후 肝臟에서부터 腎臟으로 再分配가 일어나며, 腎臟에서 카드뮴이 濾過, 排泄, 再吸收되는 과정에서 발생하는 近位曲細尿管 上皮細胞의 손상이 가장 주요한 病變으로 알려져 있으며 睾丸 精細管의 壞死소견의 보고도 있다.[33]

Condron 등[27]은 2 mg/kg의 카드뮴을 5회 피하주사하거

**Table 12. Time duration of appearance in serological indices change, light microscopic lesion and HSP induction in liver, kidney and testis of treated rats** (unit : time)

| Organ / Group | Liver | | | Kidney | | | Testis | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | SIC | LML | HSPI | SIC | LML | HSPI | LML | HSPI |
| Cd | 1 wk | – | 4 hrs | 4 wks | 8 wks | 2 hrs | 8 wks | 2 hrs |
| Cd+Dds | 1 wk | – | 2 hrs | 4 wks | 8 wks | 4 hrs | 8 wks | 2 hrs |
| Cd+Ra | 1 wk | – | 2 hrs | 8 wks | 8 wks | 4 hrs | 8 wks | 2 hrs |

SIC: Serological index changes
LML: Light microscopic lesion
HSPI: Heat shock protein induction
Cd: Cadmium chloride 20 mg/kg in distilled water
Dds: diallyl disulfide (50 mg/kg in cron oil p.o., 3 times a week)
Ra: Retinol acetate (50,000 IU/kg in corn oil p.o., 3 times a week)

**Table 13. Cadmium contents at the time of serological indices change, light microscopic lesion and HSP induction in liver, kidney and testis of treated rats** (unit : μg/g w.w.)

| Organ / Group | Liver | | | Kidney | | | Testis | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | SIC | LML | HSPI | SIC | LML | HSPI | LML | HSPI |
| Cd | 13.04 | - | 0.685 | 4.55 | 103.9 | 0.003 | 3.846 | 0.006 |
| Cd+Dds | 12.33 | - | 0.090 | 47.94 | 109.8 | 0.187 | 3.704 | 0.004 |
| Cd+Ra | 12.36 | - | 0.102 | 98.0 | 98.0 | 0.208 | 3.872 | 0.006 |

SIC: Serological index changes
LML: Light microscopic lesion
HSPI: Heat shock protein induction
Cd: Cadmium chloride 20 mg/kg in distilled water
Dds: diallyl disulfide (50 mg/kg in cron oil p.o., 3 times a week)
Ra: Retinol acetate (50,000 IU/kg in corn oil p.o., 3 times a week)

나 飮用水로 100 μg/m*l*의 카드뮴을 39주간 投與하였을때, 腎臟 近位細尿管의 미세융모가 짧아지고 消失되며, 미토콘드리아의 크리스타가 불확실해지는 變性이 나타나고, 리보좀과 폴리좀이 파괴되는 현상이 나타남을 보고하였다. 이는 본 실험에서 미토콘드리아의 變性, 蛋白質 小球의 出現 細胞質의 腫脹, 腎臟毛細血管 內皮細胞의 腫脹과 變性된 上皮細胞의 管腔內 脫落되는 현상과의 유사한 결과를 보였다.

### $HSP_{70}$의 發顯

카드뮴投與群 肝臟에서는 投與 後 4시간, 腎臟에서 投與 後 2시간, 睾丸에서 投與 後 2시간에 $HSP_{70}$의 發顯이 증가하였으며, Cd+Dds, Cd+Ra群에서도 肝臟 2~4시간, 腎臟 4시간, 睾丸 2~4시간 내에 $HSP_{70}$의 發顯 增加를 확인하였다.

Kato 등[34]은 $CdCl_2$와 $NaAsO_2$에 의해서 $HSP_{27}$의 發顯을 확인하였으며 Ohtsuko 등[35]은 高溫處理 後 6~9시간 내에 $HSP_{70}$의 發顯增加를 보고하였고, Heikkila 등[14]은 熱耐性의 획득과 관련하여 胚仔細胞에서 $HSP_{70}$의 發顯을 확인하였다. Li 등[36]은 耐熱性 獲得과 $HSP_{70}$이 관계가 있음을 확인하면서, $HSP_{70}$의 유도는 暴露후 4시간부터 72시간까지 지속되었다고 보고하였다. Goering 등[21]은 랫드腎臟에서 $CdCl_2$ 2 mg/kg을 靜脈投與하여 4시간 후에, 70, 90, 110 KDa의 *de novo* 蛋白質 合成增加를 확인하였는데 합성증가된 蛋白質을 $HSP_{70}$, $HSP_{90}$, $HSP_{110}$으로 추측하면서 細胞毒性에 대한 指標로서 제안하였으며, 이때의 腎臟 카드뮴농도는 4~8 μg/g으로 보고하였다.

따라서, 본 실험의 결과는 Ohtsuka 등, Li 등, Goering 등이 $HSP_{70}$의 發顯을 보고한 시간과 일치하였으며, 이때의 肝臟 카드뮴 농도 0.685 μg/g, 腎臟 카드뮴 농도 0.003~0.208 μg/g으로 Goering 등[21]이 보고한 肝臟 9.92 μg/g, 腎臟 0.95 μg/g의 결과보다 낮게 나타났다(Table 15). 이같은 차이는, 카드뮴 投與方法이 본 실험에서는 經口投與를 Goering 등은 정맥주사를 하였기 때문에, 투여방법에 따른 카드뮴의 吸收특성에 기인하는 것으로 생각된다.

Lindquist 등[13]은 HSP70이 細胞 內에서 酸化反應 등에 의해 變性되거나 非正常的인 蛋白質을 제거시키는 역할을 수행한다고 하여 카드뮴의 細胞毒性機轉은 細胞 內 變性된 蛋白質生成과 관련한 酸化作用의 가능성을 제시하였다. Hiranuma 등[37]은 $HSP_{70}$이 카드뮴 投與 6시간 경과 후 감소하지만, metallothionein은 6시간 경과 이후에도 계속 유지되는 것으로 보고하였다.

본 실험에서 수행한 免疫組織化學 檢査에 의하면 $HSP_{70}$의 腎臟에서의 發顯部位는 腎臟 絲球體와 細尿管 上皮細胞로서, 吸收된 카드뮴이 濾過 · 再吸收되면서 손상을 입게 되는 부위와 일치하였다. 따라서, HSP의 發顯은 카드뮴에 의해 직접 접촉되는 細胞와의 반응에 의해 만들어지는 물질과 관계가 있는 것으로 생각된다.

본 실험에서 diallyl disulfide, retinol acetate는 $HSP_{70}$의 發顯에는 영향을 주지 않은 것으로 나타났으며, diallyl disulfide, retinol acetate가 $HSP_{70}$의 誘導와 관련이 있었다는 보고는 현재까지 없었다.

비타민 A는 肝에서 代謝되어 60% 정도가 stellate cell에 이동하여 보관되며 10~30% 정도가 retinyl esters 형태로 되어 RBP(retinol binding protein)과 結合하여 혈중으로 보내진다. 비타민 A의 혈중농도는 肝에서 stellate cell이 보관하는 양으로 조절하여 주며, 혈장중에 순환하는 holo-RBP와 結合한 retinol은 약 80%가 다시 肝로 돌아온다.[38,39] Karen 등[12]은 肝臟의 stellate cell이 강한 카드뮴 解毒作用을 보였다고 보고하여, 肝臟에서의 카드뮴毒性이 낮아질 것이라는 추측을 제기하면서, retinol에 의한 腎臟上皮의 再生 · 分化促進으로 카드뮴毒性의 輕減效果를 설명할 수 있도록 하였다.

본 실험에서는, 食品衛生과 環境衛生의 유해인자중의 하나로서 카드뮴의 폭로를 신속히 증명하기 위한 生物學的

指標로서 $HSP_{70}$의 使用可能性을 提示하였으며, 카드뮴에 의한 손상을 예방 혹은 경감시키기 위한 방안으로 우리 식생활에서 섭취기회가 많은 마늘과 비타민 A의 성분을 이용하였다. $HSP_{70}$가 생물학적 지표로서 일반화되기 까지는 敏感度(sensitivity)와 特異度(specificity)의 증명은 물론, 利用의 便利性을 확보하여야 할 것이다.

## 국문요약

본 연구는 食品衛生과 環境衛生상 주요 危害因子중의 하나인 카드뮴에 대하여 식품으로서 섭취기회가 많은 마늘성분과 비타민 A를 이용한 危害 경감 혹은 방어효과를 평가하고, 카드뮴暴露에 대한 細胞水準의 反應으로서 HSP(Heat Shock Protein, 熱衝擊蛋白質 혹은 스트레스蛋白質)의 發顯時期와 發顯程度를 관찰하고자 실시하였다. 실험동물로는 Wistar계 SPF 수컷 랫드 483마리를 사용하였으며, 對照群, 카드뮴投與群(Cd, $CdCl_2$ 20 mg/kg), 카드뮴과 마늘유 (diallyl disulfide) 投與群(Cd+Dds, diallyl disulfide 50 mg/kg), 카드뮴과 비타민 A(retinol acetate) 投與群(Cd+Ra, retinol acetate 50,000 I.U./kg)으로 구분하였다. 시험물질은 시간 간격에 따라 1, 2, 4, 8, 16, 24시간, 2, 4, 7일, 2, 4, 8, 16주에 投與하였으며, 관찰한 결과는 다음과 같다. 1. 카드뮴投與 後 4시간에 血中 카드뮴含量이 0.972~1.256 μg/g으로 對照群의 0.004 μg/g에 비하여 높아졌으며, 投與 2주까지는 肝臟의 카드뮴含量이 23.76~24.84 μg/g으로 腎臟의 20.53~22.03 μg/g보다 높았으나, 8주 후부터는 肝臟의 카드뮴含量(82.48~86.37 μg/g) 보다 腎臟의 카드뮴含量(98.0~109.8 μg/g)이 더 높았다. 따라서, 카드뮴은 投與 後 4시간에 혈액중에 높게 나타나고, 점차 肝臟으로 이동하며 다시 肝臟에서 腎臟으로 이동함으로써, 8주 이후에는 肝臟보다 腎臟의 카드뮴 蓄積量이 많아지는 것으로 나타났다. 2. 카드뮴投與에 의한 血淸중의 酵素 變化에서 ALT(Alanine Aminotransferase), AST(Aspartate Aminotransferase) 活性度는 投與 後 1주일부터 각각 60.3~73.0 U/*l*, 135.5~149.8 U/*l*로 증가했지만 肝臟 毒性을 일으키는 정도는 아니었으며, glucose는 投與 8주에 對照群(113.8 mg/d*l*)에 비하여 Cd+Ra群을 제외한 모든 群에서 72.8~77.5 mg/d*l*의 낮은 결과를 보여 대조군과 투여군간의 통계학적 有意性($p<0.05$)을 보였다. BUN(blood urea nitrogen)은 投與 4주에 對照群의 19.3 mg/d*l*에 비하여 Cd, Cd+Dds群에서 24.8~25.8 mg/d*l*로 有意한 증가를 보였으나, Cd+Ra群에서는 投與 16주에, Cd群의 33.2 mg/d*l*에 비하여 27.3 mg/d*l*으로 有意하게($p<0.05$) 낮았다. Creatinine은 모든 試驗群에서 投與 8주에 對照群의 0.77 mg/d*l*에 비하여 0.98~1.38 mg/d*l*로 높은 증가를 보였으며($p<0.05$), 16주에는 Cd群의 1.20 mg/d*l*에 비하여 Cd+Ra群은 1.02 mg/d*l*로 有意하게 낮은 결과를 보였다($p<0.05$). 3. 病理組織學的 檢査 결과 Cd群과 Cd+Ra群에서는 投與 8주부터 腎臟細尿管의 內腔에 好酸性顆粒이나 尿圓柱(urinary cast)가 관찰되었으며, Cd+Dds群은 腎臟 近位細尿管 上皮細胞에 顯著한 變性壞死가 나타났다. 睾丸은 카드뮴投與 8주부터 精細管(seminiferous tubule) 사이의 間質組織이 好酸性 液體의 貯留에 의해 확장되어 주위의 精細管이 심하게 萎縮되는 등의 소견을 보였다. Cd+Dds群과 Cd+Ra群에서는 Cd群보다 病變이 微弱하였다. 카드뮴을 2주동안 投與한 랫드에서 腎臟의 電子顯微鏡的 所見은 近位曲細尿管 細胞의 細胞質 腫脹, 미토콘드리아의 變性, 蛋白質 小球의 증가, 毛細血管 內皮細胞의 細胞質 腫脹과 空砲形成 등이 관찰되기 시작하였으며, 投與 8주에 나타난 腎臟細尿管 內腔의 無形質 小球는 탈락된 變性 上皮細胞인 것으로 확인되었다. 4. $HSP_{70}$은 카드뮴投與 後 2시간부터 發顯이 증가되어, 48시간까지 持續되며, 이후에 原狀態로 恢復되는 것으로 나타났다. 위와같은 $HSP_{70}$의 發顯은 diallyl disulfide와 retinol acetate 投與에 의해 영향을 받지 않았다. 腎臟에서의 $HSP_{70}$ 發顯은 絲球體와 細尿管上皮細胞에서 주로 發顯되는 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터, 랫드에 카드뮴을 投與하였을 때 $HSP_{70}$ 發顯은 投與 後 2~4시간 내에 나타나는 迅速한 反應임을 알 수 있었고, 마늘유(diallyl disulfide) 投與는 카드뮴에 의한 腎臟損傷을 促進시키나, 비타민 A(retinol acetate) 投與는 카드뮴에 의한 腎臟損傷을 抑制시키는 효과를 보였다. 카드뮴에 대한 睾丸손상은 마늘유(diallyl disulfide) 혹은 비타민 A(retinol acetate)를 投與함으로써 損傷 防禦效果를 보였다.

## 參考文獻


1. 수의공중보건학 : 한국수의공중보건학회 및 한국수의공중보건학교육협의회 편, 284, 318-319, 347, 726, 문운당, 1998.
2. Metal contamination of food, Conor Reilly, 2nd ed., 131-135, London & New York, Elsevier Applied Science, 1991.
3. Nordberg, G.F.: Cadmium carcinogenesis and its relationship to other health effects in humans. *Scandinavian Journal of Work Environmental Health,* **19**, 104-107 (1993).
4. Kawada, T., Koyama, H. and Suzuki, S.: Cadmium, NAG activity, and $\beta_2$-microglobulin in the urine of cadmium pigment workers. *British Journal of Industrial Medicine,* **46**, 52-55 (1989).
5. 용준호, 김종오, 이인모, 국내 종계장의 계사내 공기중 호흡성 분진과 중금속 함량에 관한 연구, 한국수의공중보건학회지, **18**(4), 339-352 (1994).
6. 1998 TLVs and BEIs, Threshold limit value for chemical substances & physical agents, ACGIH, 1998.
7. Waalkes, M.P., Peranton, A., Bhave, M.R. and Rehm, S.: Strain dependence in mice of resistance and susceptibility to the testicular effects of cadmium: assessment of the role of testicular cadmium-binding proteins. *Toxicology and Applied Pharmacology,* **93**, 47-61 (1988).
8. Jin, T. and Nordberg, G.F.: Cadmium toxicity in kidney cells. Resistance induced by short term pretreatment *in vitro* and *in vivo*. *Acta Pharmacology et Toxicology,* **58**, 137-143 (1986).
9. Shiraishi, N., Uno, H. and Waalkes, M.P.: Effect of L-ascorbic acid pretreament on cadmium toxicity in the male fischer (F344/NCr) rat. *Toxicology,* **85**, 85-100 (1993).
10. Shiraishi, N., Barter, R.A., Uno, H. and Waalkes, M.P.: Effect of progesterone pretreatment on cadmium toxicity in the male fischer (F344/NCr) rat. *Toxicology and Applied Pharmacology,* **118**, 113-118 (1993).
11. Dausch, J.G. and Nixon, S.W.: Garlic; A review of its relationship to malignant disease. *Preventive Medicine,* **19**, 346-361 (1990).
12. Karen, L.S. and Espen, S.: The ultrastructural localization of metallothionein in cadmium exposed rat liver. *Histochemical Journal,* **25**, 857-864 (1993).
13. Lindquist, L. and Craig, E.A.: The heat shock proteins. *Annual Review of Genetics,* **22**, 631-677 (1988).
14. Heikkila, J.J., Browder, L.W., Gedamu, L., Nickells, R. W. and Schultz, G.A.: Heat-shock gene expression in animal embryonic systems. *Canadian Journal of Genetic Cytology,* **28**, 1093-1105 (1986).
15. Mirkes, P.E. and Doggett, B.: Accumulation of heat shock protein 72 (hsp 72) in postimplantation rat embryos after exposure to various periods of hyperthermia (40°-43°C) *in vitro*: Evidence that heat shock protein 72 is a biomarker of heat-induced embryotoxicity. *Teratology,* **46**, 301-309 (1992).
16. 김판기 : 카드뮴이 랫드의 heat shock protein 발현에 미치는 영향과 독성학적 변화에 관한 연구, 한국환경위생학회지, **22**(4) 91-101 (1996).
17. Friberg, L., Elinder, C.G., Kjellstrom, T. and Nordberg, G.F.: Cadmium and health a toxicological and epidemiological appraisal, volume 1, CRC press, 1-178, 1985.
18. Clayton, G.D. and Clayton, F.E.: Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 4th edition, volume II, 35-49, 1880-2057, 1991.
19. Lee, Y.S. and Jang, J.J.: Modifying effects of garlic and red pepper extracts on diethylnitrosoamine induced hepatocarcinogenesis. *Environmental Mutation & Carcinogenesis,* **11**(1), 21-28 (1991).
20. Biesalski, H.K.: Comparative assessment of the toxicology of vitamin A and retinoids in man. *Toxicology,* **57**, 117-161 (1989).
21. Goering, P.L., Kish, C.L. and Fisher, B.R.: Stress protein synthesis induced by cadmium-cysteine in rat kidney. *Toxicology,* **85**, 25-39 (1993).
22. O'Farrell, P.H.: High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *Journal of Biological Chemistry,* **250**(10), 4007-4021 (1975).
23. 이재형, 김정현, 김남송, 김문현, 기노석: 카드뮴 및 아연 투여에 의한 흰쥐의 장기내 카드뮴 축적 및 Metallothionein 생성변화, 한국환경위생학회지, **20**(2), 64-72 (1994).
24. 조영채, 전무혁, 장경수: Lactobacillus acidophilus 발효유가 cadmiun 투여된 흰쥐의 사료 및 수분섭취량과 체중에 미치는 영향, 한국수의공중보건학회지, **18**(3), 231-240 (1994).
25. Ninomiya, R., Koizumi, N. and Tsukamoto, T.: Change of metal distribution in organs of cadmium-administered and copper-deficient rat. *Japaneses Jouranl of Hygiene,* **48**, 920-931 (1993).
26. Theocharis, S.E., Margeli, A.P., Giannakou, N., Drakopoulos, D.S. and Mykoniatis, M.G.: Cadmium-induced hepatotoxicity in three different rat strains. *Toxicology Letters,* **70**, 39-48 (1994).
27. Condron, R.J., Schroen, C.J. and Marshall, A.T.: Morphometric analysis of renal proximal tubules in cadmium-treated rats. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology,* **26**(1), 51-58 (1994).
28. 이영옥, 차철환, 임국환: 백서의 카드뮴중독시 마늘, D-penicillamine 및 N-acetyl-DL-penicillamine의 방어효과에 관한 연구, 고려대논집, **23**(3), 43-52 (1986).

29. Belman, S.: Onion and garlic oils inhibit tumor promotion. *Carcinogenesis,* **4**(8), 1063-1065 (1983).
30. Sumiyoshi, H. and Wargobich, M.J.: Chemoprevention of 1.2.-Diethylhydrazine-induced colon cancer in mice by naturally occurring organosufur compound, Cancer Research 50, 5084-5087, 1990.
31. Petkovich, M., Brand, N.J., Krust, A. and Chambon, P.: A human retinoic acid receptor which belongs to the family of nuclear receptors. *Nature,* **330**, 444-450 (1987).
32. Guthrie, C.J.G., Chettle, D.R., Franklin, D.M., Scott, M. C., Mason, H.J., Wright, A.J., Gompertz, D.R., Dvaison, A.G., Fayers, P.M. and Newman Taylor, A.J.: The use of multiple parameters to chracterize cadmium-induced renal dysfunction resulting from occupational exposure. *Envionmental Research,* **65**, 22-41 (1994).
33. Friedman, P.A. and Gesek, F.A. Cadmium uptake by kidney distal convoluted tubule cells. *Toxicology and Applied Pharmacology,* **128**, 257-263 (1994).
34. Kato, K., Hasegawa, K., Goto, S. and Inaguma, Y.: Dissociation as a result of phosphorylation of an aggregated form of the small stress protein, hsp27. *Journal of Biological Chemistry,* **269**(15), 11274-11278 (1994).
35. Ohtsuka, K., Nakamura, H. and Sato, C.: Intracellular distribution of 73,000 and 72,000 dalton heat shock proteins in HeLa cells. *International Journal of Hyperthermia,* **2**(3), 267-275 (1986).
36. LI, G.C. and Mak, J.Y.: Re-induction of hsp70 synthesis : an assay for thermotolerance. *International Journal of Hyperthermia,* **5**(3), 389-403 (1989).
37. Hiranuma, K., Hirata, K., Abe, T., Hirano, T., Matsuno, K., Hirano, H., Suzuki, K. and Higashi, K.: Induction of mitochondrial chaperonin, hsp60, by cadmium in human hepatoma cells. *Biochemistry and Biophysics Research Communications,* **194**(1), 531-536 (1993).
38. Zile, M.H.: Vitamin A homeostasis endangered by environmental pollutants(43494). *Proceedings of Society for Experimental Biology and Medicine,* **201**, 141-153 (1992).
39. Perez-Castro, A.V., Toth-Rogler, L.E., Wei, L-N and Nguyen-Huu, M.C.: Spatial and temporal pattern of expression of the cellular retinoic acid-binding protein and the cellular retinol-binding protein during mouse embryogenesis. *Developmental Biology,* **86**, 8813-8817 (1989).