

카드뮴중독 시 쥐신장의 인산염 이동계의 변화

고신대학 의학부 생리학 교실

안도환, 박양생

Effect of Cadmium Intoxication on Renal Phosphate Transport System in Rats

Do Whan Ahn, Yang Saeng Park

Department of Physiology

Kosin Medical College, Pusan 602-702, Korea

= Abstract =

Effect of cadmium intoxication on the renal cortical phosphate transport system was studied in adult Sprague-Dawley male rats. Subcutaneous injections of CdCl_2 at a dose of 2 mg Cd/kg body weight per day for 2 weeks induced marked polyuria, glycosuria, proteinuria and phosphaturia, which are the characteristics of chronic cadmium intoxication. In the renal cortical brush-border membrane vesicles prepared from cadmium-intoxicated rats, the Na^+ -dependent phosphate uptake was markedly attenuated, whereas the Na^+ -independent uptake was not apparently altered.

These results indicate that cadmium intoxication impairs the Na^+ -dependent phosphate cotransport system in the brush-border membrane of renal proximal tubular cells, which leads to phosphaturia in intact animals.

Key Words : Cadmium, BBMV, Na^+ -Phosphate cotransport

서 론

카드뮴(Cd)은 유독성 환경오염 물질로 호흡기, 신장, 골격계 등에서 중독현상을 일으키는데 1960년대 일본에서 발생한 Itai-itai병은

카드뮴 만성중독의 대표적인 사례이다. 사람이나 실험동물에서 카드뮴 중독의 초기 소견이 신장의 기능변화로 나타나기 때문에 신장에 대한 관찰은 매우 중요하다²¹⁾.

신장에서 카드뮴 만성중독의 특징적인 변화

는 다뇨, 요농축능의 감소, 단백뇨, 아미노산뇨, 당뇨, 인산뇨, 칼슘뇨 등인데^{1, 3, 5, 15, 17)} 이러한 변화는 사구체보다 신세뇨관에 더 심한 영향을 미치기 때문인 것으로 알려져 있다¹⁹⁾. 이렇게 신세뇨관의 기능장애가 초래되는 이유는 카드뮴이 신장의 근위세뇨관세포에 선택적으로 다량 축적되기 때문이다²⁵⁾. 즉 체내로 들어온 카드뮴은 간에서 metallothionein(MT)이라는 중금속 결합단백질의 합성을 유도하여 Cd-MT복합체를 형성한다. 이 복합체는 사구체를 통하여 여과되어 pinocytosis에 의해 근위세뇨관세포에 축적되고 여기서 lysosome효소에 의해 분해된다. 따라서 이 때 유리된 카드뮴이온이 신세뇨관의 기능장애를 유발하는 것으로 보고되어 왔다^{22, 25)}.

카드뮴에 의한 신기능장애 중에서 다뇨와 요농축능의 감소는 세뇨관에서 전해질보다는 요소, 단백질, 당, 아미노산 등 유기물과 칼슘, 인산염 등 용질배설의 증가에 따른 삼투성 이뇨에 기인하며¹⁷⁾, 당뇨와 아미노산뇨의 발생은 근위세뇨관 세뇨관강막(brush-border membrane)의 Na^+ -dependent cotransport system의 장애 때문인 것으로 밝혀졌다^{16, 19)}.

그러나 인산뇨의 경우 그 발생기전이 아직 밝혀지지 않았으며 이에 대한 철저한 연구가 시행된 바 없었기 때문에 본 연구에 착수하였다. 사구체에서 여과된 인산염은 근위세뇨관에서 대부분 재흡수되고 그 과정도 세뇨관강막을 통한 Na^+ -phosphate cotransport 과정인 것으로 알려져 있으므로^{9, 13)} 본 연구에서는 카드뮴 만성중독시 나타나는 인산뇨의 원인이 일차적으로 근위세뇨관 세뇨관강막에서의 Na^+ -phosphate cotransport 과정의 저해에 의한 것인지를 밝히고자 하였다.

실험재료 및 방법

1) 실험동물

실험동물은 본 교실에서 계속 일정한 환경 조건에서 사육한 Sprague-Dawley계 흰쥐수컷

(250~300g)을 사용하였는데, 실험동물들을 실험군과 대조군으로 나누어 실험군에는 매일 체중 Kg당 2 mg의 카드뮴을 CdCl_2 형태로 2주간 피하 주사하여 카드뮴 중독을 유발하였으며 대조군에는 동량의 생리식염수를 주사하였다.

2) 요분석

실험기간 중 각 군의 신장기능의 변화를 조사하기 위하여 약물처리 전일과 처리 2주 후에 실험동물을 대사장자(metabolic cage)에 넣고 24시간뇨를 채취하였는데, 요채취 중 요중에 이물질이 혼입되는 것을 막기 위하여 24시간 동안 사료와 물을 주지 않았으며 요수집용기에는 파리핀유를 점적하여 요의 증발을 막았다. 요채취가 끝나면 요량을 측정하고 요중의 단백질, 포도당 및 무기인의 함량을 측정하였는데, 단백질은 Bio-Rad 시약을 사용하여 Bradford방법⁷⁾으로, 포도당은 mutarotase-GOD 방법(Wako Technical Bulletin No 270-66509)으로, 그리고 무기인은 Fiske와 SubbaRow방법¹²⁾으로 각기 측정하였다.

3) 신피질 조직으로부터 막소포의 분리

막소포의 분리는 실험군과 대조군에서 동시에 시행하여 실험조건에 따라 나타날 수 있는 오차를 최소화하였다. 실험동물을 경부탈골로 희생시켰으며 개복한 후 양쪽 신동맥이 분지하는 대동맥의 상부를 절찰한 다음 냉각된 0.15 M NaCl 용액(4°C)을 하부 대동맥을 통하여 역류시킴으로써 신장내의 혈액을 재빨리 제거시켰다. 그리고 이후의 모든 처리는 4°C에서 시행하였다. 그다음 신장을 적출하여 피막을 벗기고 2~3mm 두께로 잘라 신피질만을 분리한 후 잘게 썰어서 sucrose 완충용액(250 mM sucrose, 10 mM Hepes-Tris, pH 7.4)내에 1/10(w/v)의 비율로 넣고 조직파쇄기(Potter homogenizer)를 이용하여 1,500rpm에서 25회 왕복하여 균등액(homogenate)을 만들었다. 균등액으로부터 막소포의 분리는 Kinsella등¹⁸⁾

과 Scalera 등²⁴의 방법을 변형하여 다음과 같이 시행하였다. 균등액을 냉동원심분리기(Sovall RC-5B, superspeed centrifuge, SS-34 Rotor)내에서 $1.075 \times g$ 로 10분간 원심침전시킨 후 상층액만 모으고 pellet을 원래 균등액 부피의 반이 되게 sucrose 완충용액으로 희석하여 $1.075 \times g$ 로 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 먼저 취한 상층액과 합쳤다(Fraction 1). 이것을 다시 $14,460 \times g$ 에서 15분간 원심분리하여 하부의 검은 pellet은 버리고 상층액과 pellet중 연한 상층부분을 같이 모아(Fraction 2) 다시 $47,800 \times g$ 에서 30분간 원심분리하였다. 이것의 상층액과 하부의 검은 pellet은 버리고 fluffy layer만 모아서 26.5 ml가 되도록 sucrose 완충용액을 가한 후(Fraction 3) 3.5 ml의 Percoll 원액을 가하여 총량이 30ml, Percoll 농도가 11.7%되게 한 다음 아래위로 흔들어 잘 혼합하고 $47,800 \times g$ 에서 40분간 원심분리하여 밀도구배(density gradient)가 생기게 하였다. 다음에는 피펫을 사용하여 상층으로부터 1ml씩 조심스럽게 분리하여 처음 0~4ml는 버리고 중간 5~15ml는 기저막 소포(basolateral membrane vesicle, BLMV)분획으로, 마지막 16~30ml는 세노관강 막소포(brush-border membrane vesicle, BBM-V) 분획으로 하였다. 각 막소포분획은 초원심분리기(Sovall OTD, TFT 70.38 Rotor, D75, Ultracentrifuge)를 사용하여 $100,000 \times g$ 로 1시간동안 원심분리하여 가장 하부에 침전된 투명한 Percoll층을 제거하였다. BLMV분획은 100 mM mannitol, 100 mM KCl, 10mM Hepes-Tris(pH 7.4)가 포함된 완충용액으로 단백질 농도가 6~7mg/ml되도록 희석하고 25 gauge 주사침을 수 회 통과시켜 막소포가 용액내에 고르게 분포되도록 하였으며, BBM-V 분획은 Mg^{++} 침전법⁶⁾을 이용하여 순도를 더욱 높였다. 즉 BBM-V분획에 $MgCl_2$ 가 포함된 완충용액을 가하여 최종농도가 10 mM되게 한 후 얼음물 속에서 60분간 진탕한 다음 $1.075 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 상층액을 따로

모았다. Pellet에 동일한 완충용액을 가하여 혼합한 후 $1,075 \times g$ 로 다시 원심분리하여 상층액을 취하고 처음 상층액과 합친 다음 초원심분리기를 이용하여 $100,000 \times g$ 로 1시간 동안 침전시켰다. 침전된 막소포를 100 mM mannitol, 100 mM KCl, 10 mM Hepes-Tris(pH 7.4)가 포함된 용액과 혼합하였는데 그 방법은 BLMV분리시와 동일하였다.

4) 표지효소(marker enzyme)의 활성도 측정

Na-K-ATPase 활성도는 Jorgensen과 Skou의 방법¹³⁾으로 측정하였다. 즉 0.25 mg의 막단백질을 포함하는 막소포분획을 2 mM EDTA, 25mM imidazole 및 0.6 mg/ml의 deoxycholate(pH 7.0)가 포함된 용액에 가하고 총량이 1ml되도록 증류수를 넣은 후 25℃에서 30분간 preincubation시켰다. Preincubation이 끝난 후 혼합액을 100 μ l씩 취하며 histidine, NaCl 및 KCl이 포함된 용액(total ATPase 활성도 측정용)과 histidine, NaCl 및 ouabain이 포함된 용액(Mg-ATPase 활성도 측정용)이 각각 500 μ l씩 담긴 시험관에 가한 후 ATP와 $MgCl_2$ 가 포함된 용액을 각각 500 μ l씩 첨가함으로써 효소반응을 개시하였다. 이때 반응액 중의 Na^+ , K^+ , histidine, Mg^{++} , ATP 및 ouabain의 농도는 각각 130, 20, 30, 3, 3 및 1 mM이었고 pH는 7.5이었으며 incubation 온도는 37℃였다. 10분간 preincubation한 후 6% perchloric acid 200 μ l를 가하여 반응을 중지시키고 시료를 얼음물속에 넣었다가 $3,500 \times g$ 로 15분간 원심분리한 후 상등액 내에 유리된 인산염의 양을 Fiske와 SubbaRow의 방법¹²⁾으로 측정하였다. Na-K-ATPase 활성도는 total ATPase 활성도에서 Mg-ATPase 활성도를 감한 값으로 하였다.

Alkaline phosphatase의 활성도는 Kind-King의 방법(Wako Technical Bulletin No. 270-04609 for Serum Alkaline Phosphatase, Japan)에 의거 다음과 같이 측정하였다. 즉 적절히 희석된 시료 50 μ l를 phenyl phosphate가 95 mg/dl, 4-aminoantipyrine이 110 ml/dl의 농도

로 각각 포함되어 있는 0.05 M carbonate 완충액(pH 10.0) 2 ml에 가하여 37°C에서 15 분간 중탕한 후 발색시약(0.05M phosphate 완충액에 potassium ferricyanide가 2 g/dl의 농도로 포함된 용액)을 2.0 ml첨가하여 반응을 중지시키고 발색될 때까지 수분간 기다렸다가 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준시약으로는 50 mg/dl의 phenol을 사용하였다.

막소포분획의 단백질 농도는 Bio-Rad시약을 사용하여 Bradford방법⁷⁾으로 측정하였는데 표준단백질로 소혈청 알부민을 사용하였다.

5) 막소포에서 물질이동의 측정방법

막소포내로의 인산염이동은 급속여과법¹⁴⁾을 변형시킨 방법으로 측정하였다. 즉 막소포분획(6~7 mg protein/ml) 50 μ l를 450 μ l incubation용액(100 mM mannitol, 100 mM NaCl 또는 100 mM KCl, 10 mM Hepes-Tris, pH 7.4 및 95 μ M KH_2PO_4 , 5 μ M $\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$)과 혼합하여 25°C에서 중탕시키면서 적절한 시간간격으로 100 μ l씩 취하여 진공펌프가 연결된 Millipore여과지를 통하여 급속히 여과시켰다. 다음 5ml의 정지용액(100 mM mannitol, 100 mM NaCl, 10 mM Hepes-Tris, 10 mM Na_2HAsO_4 및 pH 7.4)으로 여과지를 세척한 후 scintillation vial에 넣고 Lumagel(Lumac, AC Landgraaf, the Netherlands) 6 ml를 첨가한 후 liquid scintillation counter(Tri-Carb 4530)로 ^{32}P 의 방사능을 측정하였다. 사용된 여과지는 Millipore HAWP(pore size 0.45 μ m)로서 실험 수시간전에 증류수에 담가 두었다가 사용하였다. 막표면에 비특이적으로 결합된 $\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$ 의 양을 보정하기 위하여 막소포를 0.1% deoxycholate와 95 μ M KH_2PO_4 , 5 μ M $\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$ 가 포함된 용액에 적절한 시간간격으로 중탕한 후 100 μ l를 취하여 여과지를 통해 여과시키고 상기의 방법으로 ^{32}P 방사능을 측정하였다. 막을 통한 인산염의 이동량은 비특이적으로 결합된 양을 교정한 후 pmoles/mg protein으로 나타내었다.

6) 사용된 시약

$\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$ 는 NEN Research Products (Wilmington, USA)로부터, Percoll은 Pharmacia Fine Chemical. (Uppsala, Sweden)으로부터, alkaline phosphatase측정용 시약은 Wako 사(Osaka, Japan)으로부터, ouabain, ATP, 소혈청 알부민, Tris 및 Hepes 등은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo., USA)로부터 구입하였다.

7) 통계학적 분석

모든 실험결과는 평균값 $\pm$ 표준오차로 표기하였으며 각 군간의 차에 대한 유의성은 Student's t-test(unpaired comparison)로 검정하였다.

결 과

1) 카드뮴 처치가 신기능에 미치는 영향

표 1은 카드뮴 처치에 의한 신기능의 변화를 나타낸 것이다. 카드뮴 처치 2주 후에는 대조군에 비해 요량, 단백질 배설량, 포도당 배설량이 각각 유의있게 증가하였다. 인산염의 경우도 대조군(40.2 ± 1.7 mg/kg·day)에 비

Table 1. Effect of cadmium treatment on urine flow and urinary solute excretions

	Days of Treatment	Control N=4	Cadmium N=5	p
Urine flow (ml/kg·day)	0	18.2 $\pm$ 2.2	17.4 $\pm$ 2.6	NS
	14	15.0 $\pm$ 0.5	26.5 $\pm$ 2.5	<0.05
Protein excretion (mg/kg·day)	0	36.5 $\pm$ 3.5	37.1 $\pm$ 5.7	NS
	14	35.9 $\pm$ 4.8	132.3 $\pm$ 30.8	<0.05
Glucose excretion (mg/kg·day)	0	1.95 $\pm$ 0.20	1.84 $\pm$ 0.30	NS
	14	2.20 $\pm$ 0.32	3.72 $\pm$ 0.50	<0.05
Phosphate excretion (mg/kg·day)	0	58.9 $\pm$ 7.8	57.0 $\pm$ 4.1	NS
	14	40.2 $\pm$ 1.7	79.0 $\pm$ 5.7	<0.05

Values represent mean $\pm$ SE.

해 카드뮴군(79.0 ± 5.7)에서 2배 증가하여 카드뮴 만성중독시 볼 수 있는 당뇨, 단백뇨, 당뇨 및 인산뇨를 확인할 수 있었다.

2) 막소포의 효소활성도

세뇨관 강막소포(BBMV)와 기저막소포(BLMV)의 표지효소인 alkaline phosphatase와 Na-K-ATPase의 활성도를 측정한 바 표 2에 요약된 바와 같았다. 대조군에서 BBMV분획의 alkaline phosphatase 활성도는 균등액에 비해 15배 높았으며, Na-K-ATPase는 0.3배에 불과하였다. 그리고 카드뮴군에서 BBMV분획의 alkaline phosphatase 활성도는 균등액에 비해 18배 높았으며 Na-K-ATPase는 0.9배였다. 이러한 결과는 대조군이나 카드뮴군에서 모두 BBMV분획은 순수분리되었음을 의미한다.

Table 2. Activities of alkaline phosphatase and Na-K-ATPase in renal cortical homogenates and membrane fractions of control and cadmium-treated rats
Values represent the mean of 2 determinations in renal cortical membrane fractions prepared from 8 animals in each group.

	Alkaline phosphatase (K-A units/ μ g protein)		Na-K-ATPase (μ mole Pi/mg protein. hr)	
	Control	Cadmium	Control	Cadmium
Homogenate	2.7	1.0	14.9	16.3
BBMV	40.4	18.1	4.5	15.3
BLMV	7.3	3.3	108.3	98.2
BBMV/ Homogenate	15.0	18.1	0.3	0.9
BLMV/ Homogenate	2.7	3.3	7.3	6.0

Values represent the mean of 2 determinations in renal cortical membrane fractions prepared from 8 animals in each group.

3) 막소포에서 인산염의 이동

먼저 BBMV분획에서 측정된 인산염의 이동이 단순히 막에 부착된 것이 아니라 막소포내

로 이동된 것임을 확인하기 위하여 막소포외액의 삼투질 농도가 인산염의 축적에 미치는 영향을 조사하였다. 인산염이 실제로 막소포내로 이동된다면 평형상태(steady-state)때 막소포내 인산염의 양은 막소포의 용적에 비례할 것이므로 세포막 투과도가 거의 없는 mannitol을 첨가하여 막소포외액의 삼투질 농도를 증가시켜 막소포 용적을 감소시키면 막소포내에 축적되는 인산염의 양도 감소될 것이다. 그림 1에 나타난 바와 같이 인산염의 축적은 막소포외액의 삼투질 농도의 역수에 직선적으로 비례하였는데, 이러한 결과는 인산염이 실제로 막소포내로 이동되었음을 나타낸다. 그러나 막소포외액의 삼투질농도를 무한대로 하여 막소포내액의 용적을 0으로 했을 때에 인산염의 축적은 0이 되지 않았는데 이는 극히 일부분의 인산염이 막소포에 결합되었음을 의미한다⁹⁾. 그리고 동일한 삼투질 농도에서는 대조군과 카드뮴군에서 인산염의 막소포내 축적이 유사하였는데, 이는 막소포형성율이 양자간에 차가 없음을 나타낸다.

그림 2는 대조군과 카드뮴군의 BBMV에서 Na^+ 농도경사 존재시와 부재시 인산염 축적과정의 시간적 변화를 보여준다. 100 mM의 Na^+ 농도경사(막소포외액>막소포내액)가 있을 때(실선) 대조군의 막소포에서 보면 막소포외액에 BBMV를 첨가한 초기에 인산염의 축적량이 급격히 증가하여 약 1분후에는 최대로 축적되고 그 이후로는 막소포내에 축적되었던 인산염이 막소포 밖으로 빠져나가 2시간 후에는 평형상태에 도달하였다. 이처럼 반응 초기에 일시적으로 평형상태보다 높게 막소포내로 물질이 축적되는 현상을 "overshoot"이라고 하는데 이러한 현상은 Na^+ 과 cotransport 과정으로 이동되는 물질에서 볼 수 있는 공통적인 현상이다^{2,9,13)}. 한편 카드뮴군의 막소포에서는 인산염의 초기축적량이 대조군의 반 정도로 감소되었을 뿐만 아니라 overshoot현상도 현저히 억제되었다. 이같은 결과는 카드뮴 중독에 의해 신세뇨관의 세뇨관강막에 존

재하는 Na^+ -phosphate cotransport과정이 심하게 손상되었음을 시사한다.

그림 2의 하부의 점선은 막소포외액에 Na^+ 이 없을 때 인산염의 축적량을 보여준다. 대조군이나 카드뮴군의 막소포에서 모두 인산염

의 축적량은 시간이 지날수록 점차 증가하여 2시간 후에는 평형상태에 이르렀으며 어느 시간이나 양군간에 차가 없었다. 이러한 사실은 Na^+ 과 무관한 인산염의 이동은 카드뮴 중독시 변화되지 않음을 나타낸다.

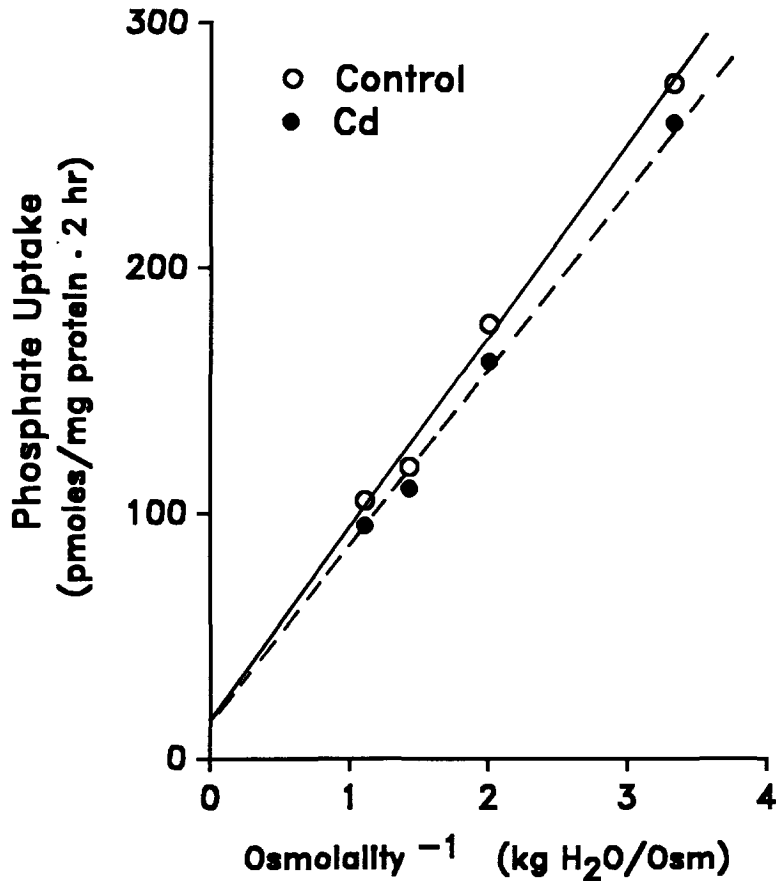


Fig. 1. Effect of medium osmolality on the phosphate uptake by isolated renal brush border membrane vesicles (BBMV) of control and cadmium-treated rats. The uptake was determined at the steady state (2 hr) in the presence of 100 mM NaCl, 95 μM KH_2PO_4 , 5 μM $\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$ and increasing amount of mannitol in the incubation medium. Each point represents the mean of 2 determinations

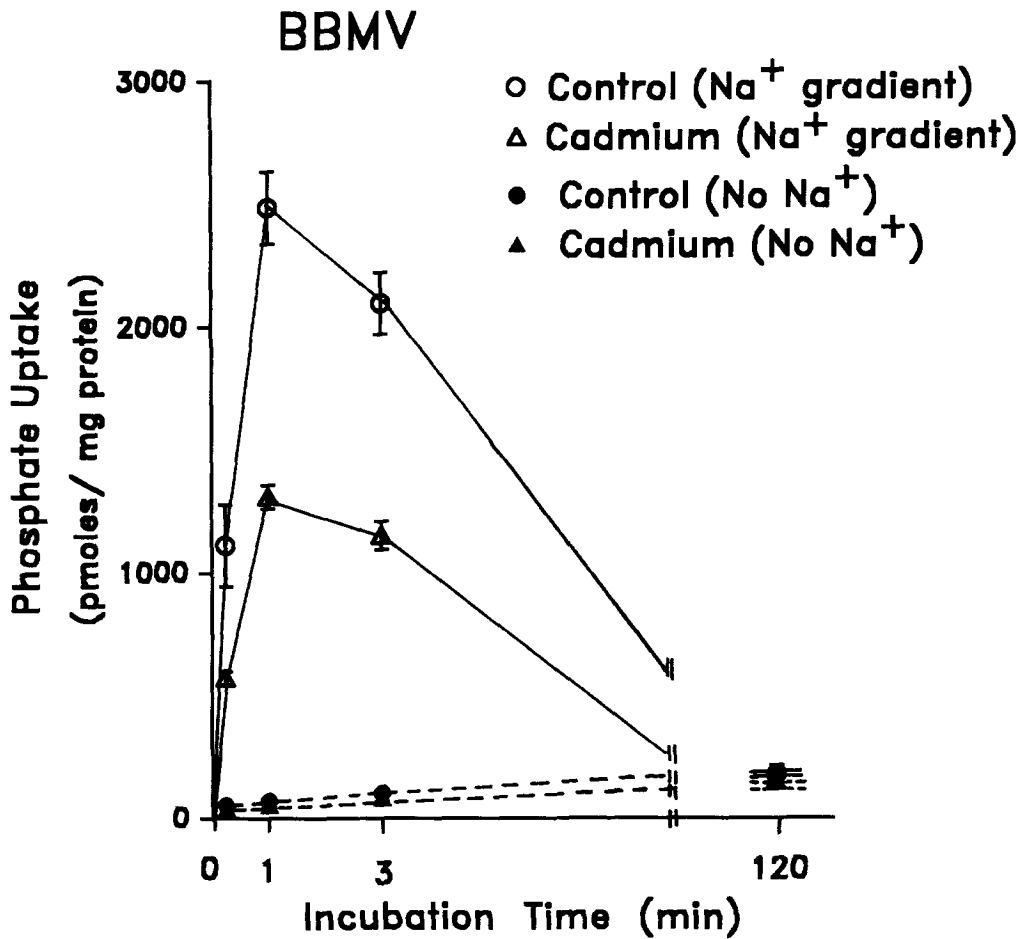


Fig. 2. Time course of Na^+ -dependent and Na^+ -independent phosphate uptake by renal cortical BBMV of control and cadmium-treated rats. Vesicles containing 100 mM mannitol, 100 mM KCl, 10 mM Hepes-Tris (pH 7.4) were incubated in a medium containing 100 mM mannitol, 100 mM NaCl (or 100 mM KCl in the case of Na^+ -independent uptake), 10 mM hepes-Tris (pH 7.4), 95 μM $\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$, and 5 μM KH_2PO_4 at 25°C. Values represent the mean $\pm$ SE of 3 determinations.

고 찰

신장에서 인산염이 이동되는 기전에 관해 근년에는 세포막 또는 분자수준에서 많은 연구가 진행되고 있다. Micropuncture 실험결과에 의하면 사구체에서 여과된 인산염은 60% 이상이 근위세뇨관에서 재흡수되는데²³⁾ 이 과정은 세뇨관강막을 통한 Na^+ 의 이동과 밀접한 관련을 갖고 있다^{4,11)}. 이같은 Na^+ -phosphate cotransport 과정은 신피질에서 분리된 막소포를 이용한 실험에서 널리 증명되었으며^{2,9,13)}, 따라서 세포막수준에서 인산염의 이동을 연구함에 있어 막소포법(isolated membrane vesicle technique)이 널리 이용되고 있다.

카드뮴에 만성중독된 사람이나 실험동물에서 널리 관찰되는 소견이 신세뇨관의 기능장애이며 이때 나타나는 특징적인 변화의 한가지가 인산염배설의 증가이다. 이러한 현상은 과거 본 교실의 연구 및 다른 연구에서 이미 밝혀진 바 있으며^{1,3,17,18)} 본 연구에서도 확인되었다(표 1). 그러나 상기한 인산뇨의 발생이 근위세뇨관의 인산염이동기전의 저해에 의한 것인지는 아직 밝혀진 바 없다.

본 연구에서는 카드뮴을 처치한 쥐의 신피질에서 분리한 BBMV에서 Na^+ -dependent phosphate의 이동량이 대조군에 비하여 현저히 감소하였다(그림 2). 이러한 사실은 카드뮴 처치에 의해 세뇨관강막에 존재하는 Na^+ -phosphate cotransport 기전이 심하게 저해되었음을 명확히 나타낸다. 따라서 카드뮴중독에 의한 인산뇨발생의 일차적인 원인이 근위세뇨관 세뇨관강막의 Na^+ -phosphate cotransport system의 손상이라고 할 수 있는데, 이러한 손상은 인산염에만 국한된 것은 아닌 것 같다. 선행된 연구결과에 의하면 카드뮴중독을 일으킨 쥐 신장 BBMV의 Na^+ -glucose cotransport system, Na^+ -aminoacid cotransport system 및 H^+ -tetraethylammonium antiport

system 등이 모두 저해되는 것으로 보아^{16,19)} 카드뮴에 의해 세뇨관강막의 기능이 전반적으로 손상을 받은 결과로 사료된다.

카드뮴이 어떤 기전으로 세뇨관강막의 Na^+ -phosphate cotransport 기능을 손상시키지는 아직 상세히 모르고 있다. Na^+ -glucose 및 Na^+ -aminoacid cotransport system에 대한 동력학적 분석결과에 의하면 카드뮴중독시 이들 cotransporter의 생화학적 성상은 변화되지 않지만 운반체의 유효숫자가 감소되는 것으로 나타났다^{16,19)}. 따라서 Na^+ -phosphate의 cotransporter 역시 감소될 것으로 추측되나 이에 대해서는 추후 연구가 요구된다.

끝으로 본 연구에서는 근위세뇨관 이외의 부분에서의 인산염 이동에 대한 카드뮴의 영향은 밝히지 못했다. 쥐에서 시행한 micropuncture 실험결과에 의하면 여과된 인산염의 약 11% 헨레고리에서, 10%가 원위세뇨관에서, 그리고 4% 정도가 집합관에서 재흡수된다²³⁾. 이러한 인산염의 재흡수 역시 카드뮴 중독시 저해되는지는 알 수 없으나 그 가능성은 적을 것으로 여겨진다. 전술한 바와 같이 사구체에서 여과된 Cd-MT 복합체는 근위세뇨관에서 중금속 결합단백질의 재흡수기전(pinocytosis)에 의해 재흡수되어 근위세뇨관세포에 선택적으로 축적되기 때문에 근위세뇨관의 기능에만 주로 영향을 미치는 것으로 알려져 있기 때문이다. 그러나 만일 카드뮴 중독시 부갑상선 호르몬(PTH)의 분비가 촉진된다면 헨레고리 및 원위세뇨관에서도 인산염재흡수가 감소될 것이다. 왜냐하면 PTH의 증가는 근위세뇨관 뿐만 아니라 헨레고리와 원위세뇨관의 인산염 재흡수에 영향을 미치는 것으로 보고되어 있기 때문이다²³⁾. 그 뿐만 아니라 대사성 산증(metabolic acidosis)시에도 신장의 인산염 배설이 증가되는 것으로 알려져 있으므로⁸⁾, 카드뮴에 의한 인산뇨 발생기전을 모두 밝히기 위해서는 PTH분비 및 산염기 상태에 대한 카드뮴의 영향을 종합적으로 추구해야 될 것으로 사료된다.

요 약

카드뮴이 신장에 존재하는 인산염 이동계에 미치는 영향을 조사하기 위하여 2주간 체중 kg당 2 mg의 카드뮴을 쥐에게 매일 피하주사 하였다. 그결과 카드뮴 만성중독 시 나타나는 다뇨, 단백뇨, 당뇨, 인산뇨 등이 관찰되었다. 카드뮴 중독을 일으킨 쥐에서 분리된 세뇨관 강막소포(BBMV)를 이용하여 인산염의 이동을 조사한 바 Na^+ -dependent phosphate 이동량이 심하게 감소되었다. 따라서 카드뮴 중독은 신장의 세뇨관강막에 존재하는 Na^+ -phosphate cotransport system에 손상을 입혀 인산뇨를 유발함을 알 수 있었다.

REFERENCES

1. Adams RG, Harrison JF, and Scott P : The development of cadmiuminduced proteinuria, impaired renal function, and osteomalacia in alkaline battery workers. *Q J Med* 38:426, 1969.
2. Amstutz M, Hohrmann M, Gmaj P, and Murer H : The effect of pH on phosphate transport in rat renal brush border membrane vesicles. *Am J Physiol* 248 : F705, 1985.
3. Axelson B, Piscator M : Renal damage after prolonged exposure to cadmium. An experimental study. *Arch Environ Health* 12 : 360, 1966.
4. Baumann K, de Rouffignac C, Rionel N, umrich G, and Ullrich KJ : Renal phosphate transport : Inhomogeneity of local proximal transport rates and sodium dependence. *Pfluegers Arch* 356 : 287, 1975.
5. Bernard A, Lauwerys R, and Gengoux P : Characterization of the proteinuria induced by prolonged oral administration of cadmium in female rat. *Toxicology* 20 : 345, 1981.
6. Booth AG, Kenny AJ : A rapid method for the preparation of microvilli from rabbit kidney. *Biochem J* 142 : 575, 1974.
7. Bradford MM : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72 : 248, 1976.
8. Chan JCM, Barten FC : Effect of metabolic acidosis and alkalosis on the renal response to parathyroid hormone infusion in normal man. *Proc Adv Exp Med Biol* 128 : 167, 1980.
9. Cheng L, Sacktor B : Sodium gradient-dependent phosphate transport in renal brush border membrane vesicles. *J Biol Chem* 256 : 1556, 1981.
10. Dennis VW, Brazy PC : Divalent anion transport in isolated renal tubules. *Kidney Int* 22 : 498, 1982.
11. Dennis VW, Brazy PC : Sodium, glucose, bicarbonate, and alanine interactions in the isolated proximal convoluted tubule of the rabbit kidney. *J Clin Invest* 62 : 387, 1978.
12. Fiske CH, Subbaow Y : The colorimetric determination of phosphate. *J Biol Chem* 66 : 375, 1925.
13. Hoffman N, Thees M, and Kinne R : Phosphate transport by isolated renal brush border membrane vesicles. *Pfluegers Arch* 362 : 146, 1976.
14. Hopfer U, Nelson K, Perrotto I, and Isselbacher KJ : Glucose transport in isolated brush border membranes from rat small intestine. *J Biol Chem* 248 : 25, 1973.

15. Jorgensen PL, Skou JC : Purification and characterization of Na-K-ATPase in preparation from the outer medulla of rabbit kidney. *Biochim Biophys Acta* 233 : 366, 1971.
 16. Kim YK, Choi JK, Kim JS, and Park YS : Changes in renal function in cadmium-intoxicated rats. *Pharmacol & Toxicol* 63 : 342, 1988.
 17. Kinsella JL, Holohan PD, Pessah NI, and Ross CR : Isolation of luminal and antiluminal membranes from dog kidney cortex. *Biochim Biophys Acta* 552 : 468, 1979.
 18. Lee HY, Kim KR, Woo JS, Kim YK, and Park YS : Transport of organic compounds in renal plasma membrane vesicle of cadmium-intoxicated rats. *Kidney Int* 37 : 727, 1990.
 19. Mudge GH, Berndt WD, and Valtin H : *Handbook of physiology : Renal physiology*, Williams and Wilkins, Baltimore, pp 587~652, 1976.
 20. Nordberg GF (Ed.) : *Effect and dose-response relationship of toxic metals*. Elsevier, Amsterdam, 1976.
 21. Nordberg GF, Monica N : Different binding forms of cadmium implications for distribution and toxicity. *J TOEH* 9 (supplement) : 153, 1987.
 22. Pastoriza-Munoz E, Colindres RE, Lassiter WE, and Lechene C : Effect of parathyroid hormone on phosphate reabsorption in rat distal convolution. *Am J Physiol* 235 : F321, 1978.
 23. Scalera V, Huang YK, Hildermann B, and Murer H : Simple isolation method for basolateral plasma membranes from rat kidney cortex. *Membr Biochem* 4 : 49, 1981.
 24. Squibb KS, Ridlington JW, Carmichael NG, and Fowler BA : Early cellular effects of circulating cadmium-thionein on kidney proximal tubules. *Environ Health Perspect* 28 : 287, 1979.
-