

Sprague Dawley 수컷 랫트에서 Bisphenol A Diglycidyl Ether의 경구 투여에 의한 급성 독성

중앙대학교 의과대학 예방의학교실 및 병리학교실¹⁾

임재언 · 양윤정 · 이태진¹⁾ · 홍연표

— Abstract —

Acute Toxicity of Administered Bisphenol A Di Glycidyl Ether in Male Sprague Dawley Rats

Jae-un Im, Yun-jung Yang, Tae-jin Lee¹⁾, Yeon-pyo Hong

*Department of Preventive Medicine and Pathology¹⁾, College of Medicine,
Chung Ang University, Seoul 156-756, Korea*

Objectives: Bisphenol A Di Glycidyl Ether (BADGE) is the major component in commercial liquid epoxy resins, which are manufactured by co-reacting bisphenol A with epichlorohydrin. The authors investigated the acute toxicity of BADGE.

Methods: BADGE was administered by a gavage to 8 week old SPF Sprague Dawley rats in a single dose of 0 (negative control), 0.37 (Diethylstilbesterol, DES), 1000, 2000, 4000, and 8000 mg/kg/day of BADGE. Each treatment group contained 7 rats. The general status and weight of the rats were observed for 14 days. The rats were anesthetized by ether at 14 days, and the changes in morphology, organ weight, sperm count and motility, and hormone level were measured.

Results: All the rats treated with BADGE had diarrhea on the 1st day. The rats administered BADGE at 1000, 2000, and 4000 mg/kg/day showed a soiled perineal region and soft stools with diarrhea until the 3rd day. The 8000 mg/kg/day BADGE rats had diarrhea for two days followed by emaciation, soiled fur, a soiled perineal region, staining around the mouth and were moribund for three to eight days. No weight gain was observed after the 1st day in the 2000, 4000, and 8000 mg/kg/day BADGE rats and after the 7th day in all the treatment groups compared with the control groups. Some treatment groups were observed to have a decrease in the weight of the heart (BADGE 1000, 2000 and 4000 mg/kg/day), liver (BADGE 1000, 2000, 4000 and 8000 mg/kg/day) and prostate (BADGE 4000 mg/kg/day) compared with control group. The weight of the liver was significantly lower in all treatment groups compared with the control group. The relative weight of the liver (BADGE 1000 and 4000 mg/kg/day) was significant lower than the control. No pathological changes were observed in the brain, liver, thyroid, heart, spleen, kidney, lung and prostate. The number of spermatid in the seminiferous tubule in the testes was lower in all treatment groups than the control. The sperm motility tended to decrease with increasing concentration but the sperm count was similar in all treatment groups. The plasma Estrogen and testosterone level were similar in the control and treatment groups.

Conclusions: These results suggest that BADGE induces general, hepatic and reproductive toxicity at 1000 mg/kg/day.

Key Words: Bisphenol a diglycidyl ether, Acute oral toxicity, Male rats, Endocrine disruptor

〈접수일: 2006년 11월 6일, 채택일: 2006년 11월 22일〉

교신저자: 홍 연 표 (Tel: 02-820-5667) E-mail: hyp026@cau.ac.kr

* 본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(고유번호: 03-PJ1-PG1-CH04-0003)

서 론

에폭시 수지 단량체(monomer)인 2,2 bis(4-(2,3-epoxypropyl)phenyl)propane은 glycidyl ether의 한 종류이며, 일반적으로 bisphenol A diglycidyl ether(BADGE; CAS no. 1675-54-3)라고 한다(Poole et al, 2004). BADGE와 이 물질의 저중합체(oligomer)는 에폭시 수지의 중요 구성성분으로(IARC, 1999), 2,2 bis(4-hydroxyphenyl)propane (=bisphenol A, BPA)과 epychlorohydrin의 축합에 의해 얻어진다(Inoue et al, 2001; SCF, 2002). BADGE는 녹는점이 40~44°C인 결정성 물질로서 상업용 액상 에폭시 수지의 주요 성분(성분의 80% 이상)이며, 고체상의 에폭시 수지 중에서 가장 작은 분자량의 올리고머를 갖는다(분자량에 따라 20%까지)(Poole et al, 2004). 상업적으로 보존용 에폭시 수지는 접착력이 뛰어나고, 부식이나 화학적 내성이 크고, 전기적, 기계적, 열에 훌륭한 절연 효과를 나타내므로 현대 사회에서 매우 많이 사용되는 물질이다. 에폭시 수지는 설비 등의 보호용 코팅과 산업용 바닥재 등의 토목공학 용으로의 사용이 총 사용의 75% 이상을 차지하고, 단지 10% 미만에서 음식물과 음료수 캔의 안쪽 코팅막과 치과용 충전제 등으로 사용하고 있다(Poole et al, 2004).

그러므로 BADGE는 직업적 폭로에 의한 것을 제외하고 유럽 등에서는 음식물과 접촉하는 물질로서 EC Directive 2002/16/EC를 통하여 통제되고 있다. BADGE는 화학적 내성(chemical resistance)이 필요한 식품, 캔류와 음료용 캔의 내면 코팅에 사용하는 수지의 중합안정화제로 사용되므로(Gandra, 1999), 캔 식품의 열 가공시 또는 저장 조건하에서 BADGE와 BADGE 합성의 출발물질인 BPA 또는 BADGE의 가수분해 또는 염화물 형태인 분해산물(BADGE · H₂O, BADGE · 2H₂O, BADGE · HCl · H₂O, BADGE · HCl, BADGE · 2HCl)등이 식품으로 이행될 수 있다(Choi et al, 2002; Hammarling et al, 2000; Pulgar et al, 2000).

따라서 소비자가 에폭시 캔으로부터 이행되는 BADGE에 노출되는 농도는 일반적으로 법적 한계를 벗어나지 않지만 BADGE와 그 분해산물이 생식과 발육에 독성을 나타낼 수 있는 유력한 내분비 장애 물질일 가능성이 제시되어 이에 대한 건강 영향 평가를 위한 연구의 관심이 최근 고조되고 있다(Poole et al, 2004). 이미 내분비계 장애물질로 잘 알려진 BPA와 비교할 때 BADGE의 에스트로겐 효과는 BPA의 1/100 정도를 나타낸다(WWF, 2000).

그러나 BADGE의 경구 투여에 의한 독성학적 연구

가 오래 전에 이루어져(Poole et al, 2004) 현재의 기준으로 볼 때 연구 방법상 신뢰성이 확보되지 않아 그 결과를 인용하기가 어려운 상태이다. 따라서 본 연구는 BADGE의 경구 투여에 의한 급성 독성학적 연구를 시행하여 기존의 연구 결과와 비교하고 앞으로 내분비계 장애 연구에 필요한 기초자료를 얻고자 시행하였다.

연구방법

1. 시약

Bisphenol A diglycidyl ether corn oil, diethylstilbesterol(DES)는 Sigma-Aldrich(Saint Quentin France)로부터 구입하였다.

2. 실험동물

실험은 Animals Experiments of Chemon Co. Ltd에서 good laboratory practice(GLP) 제반규정(OECD, 2005)에 따라 수행되었다. 7주된 무균상태의 Sprague-Dawley 수컷 랫트는 Charles-River breeding laboratory(Wilmington, Mass, U.S.)로부터 구입하였고 구입 당시 랫트의 체중은 214.07±11.31 g 이었다. 실험 동물실은 온도 23±3°C, 습도 55±15%로 유지 하였고, 20시부터 08시까지 어둡게 해주는 12시간 주야간 주기를 유지 하였다. 먹이는Teklad Global 18% Protein Rodent Diet(Harlan, Co. Ltd., U.S)를 공급하여 1주 동안 순화시킨 후 BADGE를 섭식관으로 단회 경구 투여 하였다. 투여 당일 수컷 랫트의 체중은 242.55±15.14 g 이었다.

3. 실험 방법

랫트는 음성 대조군, 양성 대조군과 네 개의 투여군으로 분류하였고 각 군은 7마리로 구성하였다. 음성 대조군은 corn oil 을 투여하였고, 양성 대조군인 경우에는 DES 0.37 mg/kg/day를 투여하였는데, 이 농도는 새끼 랫트의 생식기계에 영향을 나타내는 가장 적은 농도이다(Fisher et al, 1999). 본 연구에서 사용된 BADGE의 투여 농도 중 가장 낮은 농도는 1000 mg/kg/day로 하였다. 이것은 랫트에 최대 19600 mg/kg/day의 농도를 median lethal dose(LD₅₀)로 보고하였고 BADGE가 1000 mg/kg/day 이하에서는 실험 동물에 영향을 주지 않는다는 연구를 참고하여 결정한 것이다(Poole et al, 2004). 또한 BADGE 원액을 랫트에 단회 투여할 경우 10000 mg/kg/day 의 농도가 주입

되므로 투여 최고 농도는 corn oil에 희석하여 단회 투여가 가능한 수준으로 판단한 8000 mg/kg/day으로 정하였다. 따라서 본 연구에서는 BADGE의 투여 농도를 최하 1000 mg/kg/day 에서부터 2000, 4000과 최고 8000 mg/kg/day로 정하여 단회 투여하였다. 각 농도별 BADGE의 투여 후 1, 3, 7 그리고 14일 째 각 투여군의 체중과 일반 상태를 관찰하였다. 투여 후 14일째에 랫트를 에테르로 마취하여 부검하고 각 장기 무게를 측정하였다. 측정된 무게는 각 랫트의 부검하는 날에 측정된 체중으로 나눈 후 100을 곱하여 상대장기무게를 구하였다.

4. 관찰 항목

모든 실험동물은 매일 1회 이상 일반 상태를 관찰하였다. 단, 투여 당일에는 투여 직후 및 투여 후 6시간까지 매시간 마다 관찰하였다. 체중은 모든 동물에 대하여 투여 전과 투여 후 1, 3, 7, 14일째에 측정하였다. 투여 후 14일째에 모든 동물을 ether로 마취시킨 후 회복하여 후대정맥에서 헤파린이 처리된 주사기를 이용하여 혈액을 채취한 후 원심 분리하여 혈장을 분리하여 1.5 ml tube에 담아 -80°C 상태로 보관하였다. 회복 후 주 장기인 뇌, 갑상선, 폐, 심장, 신장, 전립샘, 비장과 간은 부검 즉시 무게를 측정 후 10% formalin solution에 저장하였다. 생식기관인 고환, 부고환은 부검 후 즉시 무게를 측정 후 Bouin's solution에 저장하였다. 조직 병리학 적 평가를 위해 paraffin으로 포매하여 처리 후 뇌, 갑상선, 폐, 심장, 신장, 전립샘, 비장, 고환, 부고환을 관찰하였다. 부검시 분리한 혈장에서 에스트로겐과 테스토스테론 농도를 각각 이중항체법과 방사선면역학적분석

(RIA)으로 측정하였다. 각 군당 3마리 랫트의 부고환과 고환에서 정자의 운동성과 수를 측정 하였다(Chung & Kim, 1995).

5. 통계

각 군의 체중, 장기무게, 정자 운동성과 정자수 그리고 호르몬 농도의 차이는 대조군과 투여군 사이에 비교를 SPSS version 12.0를 사용하여 Student's t-test로 시행하였다. 통계적 유의수준은 5%로 하였다.

연구결과

1. 일반상태

DES 0.37 mg/kg/day과 1000, 2000, 4000, 8000 mg/kg/day 의 BADGE 투여 1일 후 랫트에서 항문 주위의 오염(soiled perineal region)이 관찰되었다. 투여 3일 후에는 BADGE 1000, 2000, 4000 mg/kg/day를 투여한 투여군에서 설사로 인한 항문주위 오염(soiled perineal region and soft stools with diarrhea)이 관찰되었다. 또한, BADGE 8000 mg/kg/day 투여군에서 1 마리의 사망 동물이 관찰되었는데, 이는 투여 물질이 호흡기로 유입되어 발생한 사망이었다.

투여 7일 후에는 BADGE 8000 mg/kg/day 투여군만 항문주위 오염 및 설사(soiled perineal region and soft stools with diarrhea)가 관찰되었고, 다른 군에서는 특별한 이상이 관찰되지 않았다. 투여 후 14일에는 모든 군에서 특별한 이상이 관찰되지 않았다.

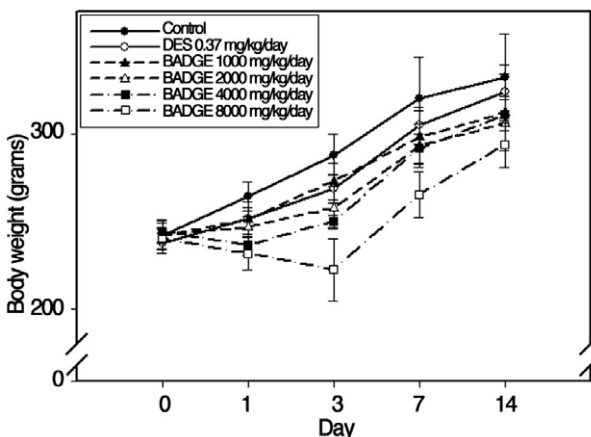


Fig. 1. The changes of body weight in male rats exposed to BADGE. Values are means and standard errors. Weight gain was not observed after the 1st day in the BADGE 2000, 4000, and 8000 mg/kg/day rats. BADGE 8000 mg/kg/day administered rats were slightly decreased till 3rd day (p<0.0001).

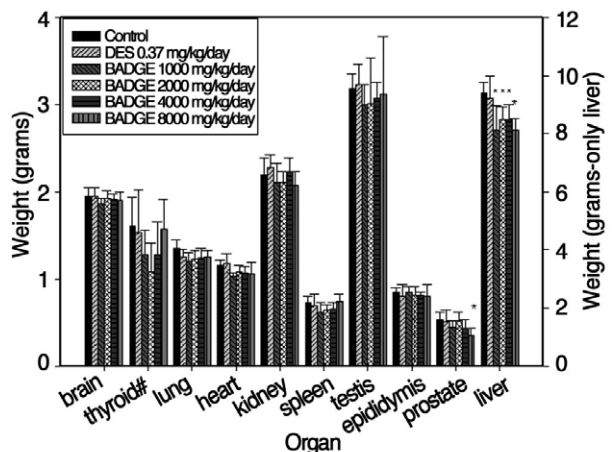


Fig. 2. The changes of absolute organ weight in male rats exposed to BADGE. Values are means and standard errors. Significant weight changes in liver (all treatment groups) and prostate(8000 mg/kg/day treatment group), p<0.05 (#: measurement values × 100).

A

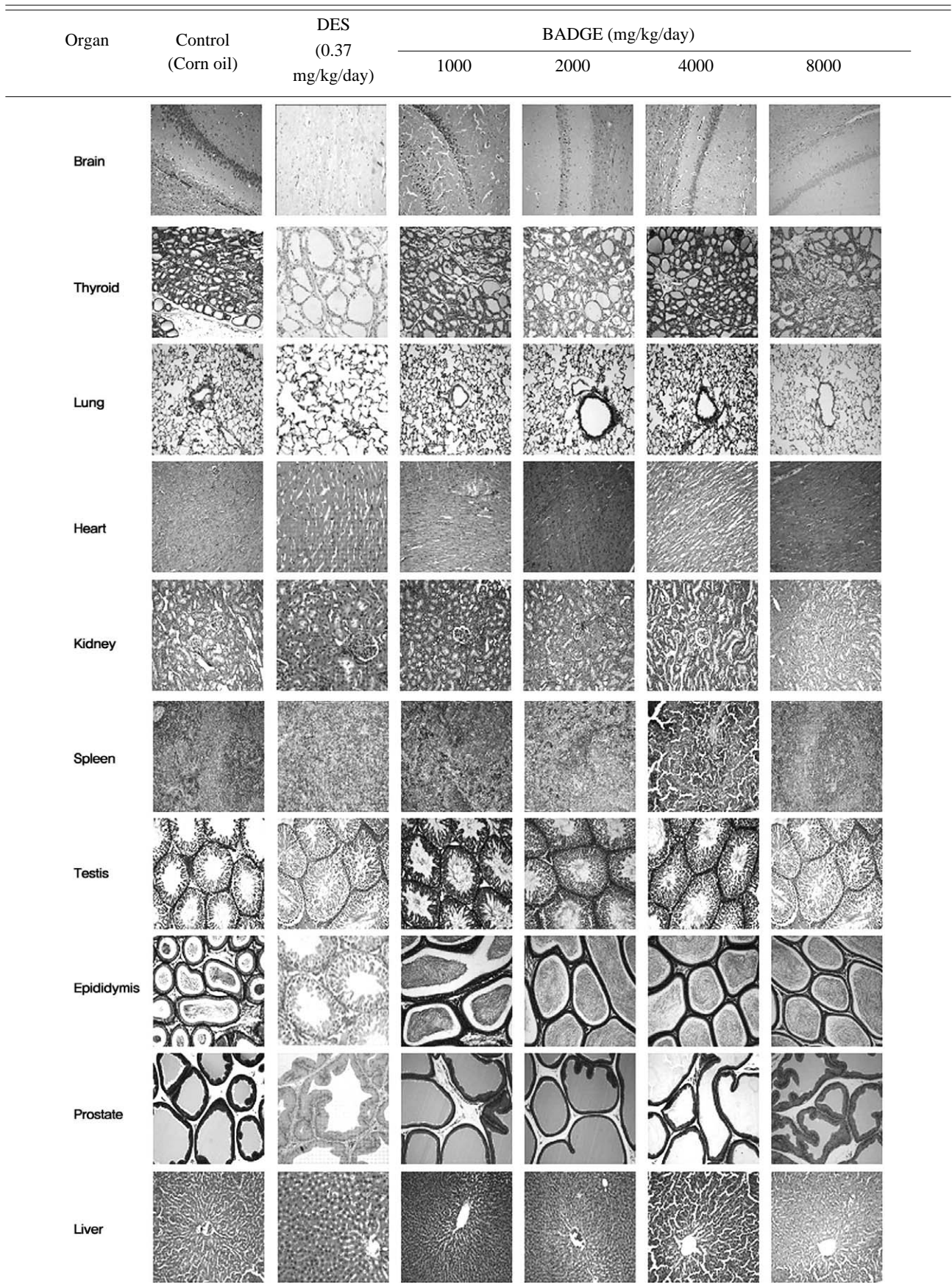


Fig. 3. Histopathological founding of the organs (H&E staining). No histopathological changes were found in any organs except testis. Decreased number of spermatid in seminiferous tubules(A: $\times 100$ and B: $\times 100$ and $\times 400$).

B

Organ	Control (Corn oil)	DES (0.37 mg/kg/day)	BADGE (mg/kg/day)			
			1000	2000	4000	8000
×100						
×400						

a: spermatogonia b: spermatid

2. 체중 변화

실험 전 대조군과 DES, BADGE 1000, 2000, 4000, 8000 mg/kg/day 투여군 체중의 평균과 표준편차는 각각 242.26±8.52 g과 237.74±5.81 g, 241.70±7.42 g, 242.03±3.79 g, 244.04±6.49 g, 240.08±6.13 g 이었다.

투여 후 14일까지의 체중 변화를 Fig. 1에 나타냈다. 투여 후 대조군의 체중은 시간 변화에 따라 거의 직선적으로 증가하는 것으로 나타났으나 DES와 BADGE 투여군의 체중은 모두 대조군에 비해 낮은 수준으로 관찰되었다.

3. 절대 장기 무게

모든 장기의 무게는 Fig. 2에 나타냈다. 주요 장기 중 뇌, 갑상선, 폐와 비장 등의 무게는 대조군과 DES, BADGE 투여군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 심장의 경우 대조군의 평균 무게가 1.16 g 이었으나 BADGE 1000, 2000, 4000 mg/kg/day 투여군은 모두 대조군과 유의한 차이를 보였다(p<0.05). 또한 대조군의 평균 간 무게가 9.38 g이었고 DES투여군은 9.22 g로 두 군 간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 그러나 BADGE 투여군의 간 무게는 대조군에 비해서 0.39~1.27 g 정도 낮게 나타났고 통계학적으로도 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

생식기계인 고환과 부고환의 무게는 대조군과 DES, 모든 BADGE를 투여군 간에 유의한 차이가 없었다. 그러나 BADGE 4000 mg/kg/day 투여군의 전립샘의 평균 무게가 0.43 g로 대조군의 0.53 g에 비해 0.1 g 정도 낮았고 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

4. 상대 장기 무게

각 투여군의 상대 장기 무게의 평균 및 표준편차는 표 1에 나타났다. 대조군과 DES, BADGE를 투여한 모든 투여군에서 뇌, 갑상선, 폐, 심장, 신장, 비장의 상대 무게는 유의한 차이가 없었다.

간의 상대 무게는 대조군에서 약 2.83%로 나타났고, DES투여군은 약 2.85%로 두 군 간에 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 그러나 BADGE 1000과 4000 mg/kg/day 투여군은 각각 2.60%와 2.56%로 대조군과 유의한 차이가 관찰되었다(p<0.05).

생식기계인 고환과 부고환은 DES, BADGE 투여군과 대조군의 상대 무게는 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 그러나 전립샘은 대조군에서 0.16% 이었고 BADGE 8000 mg/kg/day 투여한 군에서는 0.12%로 대조군에 비해 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

6. 정자 운동성과 정자수

대조군의 정자 운동성 비율은 약 90% 이었고, BADGE 4000 mg/kg/day 투여군을 제외한 다른 군에서 운동성이 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지 않았다(Table 2).

고환의 정자수는 대조군과 비교하여 대략 13~54×10⁶ 정도 줄어들었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었고 부고환의 경우 대조군의 정자수는 약 116×10⁶로 DES와 BADGE 4000, 8000 mg/kg/day 투여군과 비슷하였다. 그러나 1000, 2000 mg/kg/day 투여군은 대조군에 비해 각각 15×10⁶ 정도 증가, 35×10⁶ 정도 감소하였지만, 통계적으로 유의한 차이는 아니었다.

정자의 기형율은 대조군이 약 3%였고, DES와, BADGE 투여군 모두 대조군과 유의한 차이는 없었다.

7. 호르몬 검사

대조군의 에스트로겐과 테스토스테론의 평균과 표준편차는 각각 81.43 ± 27.73 pg/ml, 8.43 ± 5.52 ng/ml 이었다. DES와 BADGE 투여군은 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 4).

고 찰

본 연구 결과를 종합해 보면 모든 투여군에서 투여 3일째부터 설사를 동반한 다른 일반 증상과 체중 감소 경향, 일부 BADGE 투여군에서 대조군에 비해 심장, 간과 전립샘의 무게 감소, 간과 전립샘에서 몸무게로 보정한 상대 무게의 유의한 감소 그리고 조직학적으로 고환의 세정관에서 정자세포의 감소가 나타난 것이다.

BADGE를 단회 투여한 다른 연구에서 LD가 랫트에서는 11400 mg/kg/day, 마우스에서는 15600 mg/kg/day 그리고 토끼에서는 19800 mg/kg/day로

보고되었다(Pool et al, 2004). 그러나 CCOHS(2004)에서는 BADGE를 매우 높은 농도(13000 mg/kg/day 이상)로 랫트에 경구 투여하였을 경우 중증도의 우울증, 약간의 호흡곤란, 설사와 체중감소를 일으킬 수 있고 1000 mg/kg/day 이하의 농도에서는 아무 영향이 나타나지 않는다고 하였다. 이와 같이 이제까지의 연구들은 경구로 단회 투여할 경우 1000 mg/kg/day 보다 높은 경우에만 동물에 영향을 준다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 1000 mg/kg/day의 농도로 BADGE를 투여한 군에서부터 설사와 항문주위오염 등 여러 가지 증상들이 관찰되었다. 한편, 실험동물의 체중은 모든 BADGE 투여군에서 투여 후 3일째까지는 체중이 감소하거나 혹은 체중의 증가가 거의 관찰되지 않았고 3일째 이후부터는 체중이 증가하는 경향을 보였지만 대조군 수준으로 체중이 회복되지는 않았다. 이러한 체중 감소에 대해서 Wolf(1958)는 BADGE의 반복 투여로 인하여식이 섭취량이 감소하였기 때문이라고 하였으나 Basler 등(1984)은 28일 동안 1000 mg/kg/day의 BADGE를

Table 1. The change of relative organ weight in male rats exposed to BADGE (values are means and standard deviations)

	Control (Corn-oil)	DES (0.37 mg/kg/day)	BADGE (mg/kg/day)			
			1000	2000	4000	8000
Brain	0.586±0.045	0.602±0.027	0.600±0.033	0.630±0.031	0.576±0.023	0.648±0.042
Thyroid [#]	0.242±0.057	0.239±0.084	0.205±0.048	0.176±0.068	0.194±0.068	0.249±0.068
Lung	0.406±0.022	0.388±0.024	0.384±0.017	0.401±0.021	0.373±0.040	0.428±0.042
Heart	0.349±0.023	0.362±0.028	0.333±0.033	0.355±0.025	0.324±0.026	0.361±0.034
Kidney	0.329±0.026	0.329±0.072	0.337±0.032	0.344±0.018	0.335±0.031	0.352±0.021
Spleen	0.218±0.027	0.214±0.037	0.197±0.026	0.210±0.023	0.199±0.023	0.251±0.034
Testis	0.480±0.030	0.500±0.037	0.482±0.044	0.492±0.085	0.464±0.036	0.528±0.102
Epididymis	0.092±0.013	0.112±0.011	0.095±0.007	0.093±0.016	0.084±0.006	0.093±0.013
Prostate	0.161±0.026	0.155±0.039	0.145±0.029	0.169±0.032	0.131±0.029	0.119*±0.028
Liver	2.825±0.101	2.845±0.192	2.603*±0.135	2.771±0.125	2.560*±0.200	2.765±0.144

[#]measurement values × 100

* p<0.05

Table 2. Sperm head count and motility (number of rats in each group = 3)

	Sperm head count		Sperm Positive	motility (%)	Sperm Abnormality (%)
	Testis (× 10 ⁶ /testis)	Epi (× 10 ⁶ /epi)			
Control (Corn oil)	243.6±4.7	115.7±25.2	90.2±15.3		3.2±2.0
DES (0.37 mg/kg/day)	230.4±21.6	108.4±17.3	85.0±17.5		4.3±3.6
BADGE (mg/kg/day)	1000	217.7±38.1	130.5±11.2	71.2±13.8	5.2±4.2
	2000	204.8±20.9	180.8±9.5	71.2±27.9	3.0±2.3
	4000	213.7±14.8	114.3±31.5	89.8±13.8	2.7±0.8
	8000	189.3±18.91	112.7±30.9	75.8±19.9	5.0±0.9

반복 투여한 군에서는 식이 섭취량이나 체중의 변화가 관찰되지 않았다고 하여 상반된 의견을 보였다. 본 연구에서는 BADGE 투여군의 식이 섭취량을 측정하지 않았기 때문에 체중 변화의 원인이 식이 섭취의 감소 때문인지 혹은 투여 후 관찰된 설사 등과 연관된 소화기 계통 기관의 손상에 의한 것인지는 판단할 수 없었다. 주요 장기의 무게 중 심장의 경우 1000, 2000과 4000 mg/kg/day의 BADGE를 투여한 투여군의 절대 무게가 대조군에 비해 유의하게 감소하였으나 체중으로 보정한 상대 무게는 차이가 없었다. 모든 BADGE 투여군의 간의 절대 무게는 대조군에 비해 감소하였으나 상대 무게는 BADGE투여군 중 1000과 4000 mg/kg/day의 농도를 투여한 군에서만 대조군과 유의한 차이가 관찰되었다. 그러나 간의 조직학적 소견에서는 투여군에서 어떠한 특이 소견을 관찰할 수 없었다. Wolf(1958)는 BADGE의 아만성(sub-chronic) 연구에서 간과 신장의 무게가 약간의 증가하였으나 간을 포함한 다른 장기(비장, 심장과 신장)의 조직학적 변화는 관찰되지 않았다고 보고하였다. Basler 등(1984)은 1000 mg/kg/day의 BADGE를 28일간 반복 투여한 후 간을 포함한 비장, 심장, 신장 등을 관찰하였는데 BADGE와 관련된 조직병리학적 소견이 관찰되지 않았다고 보고하였다. Hine 등(1958)은 BADGE를 300, 1500 과 7500 mg/kg/day로 반복 투여한 실험에서 모든 장기에서 조직학적 이상 소견은 관찰되지 않았다고 하였다. 이러한 소견으로 보아 BADGE의 간에 대한 영향은 조직학적으로는 관찰할 수 없을 것으로 생각한다. 다만 BADGE 대사와 관련된 hepatic styrene oxide hydratase activity(microsomes+cytosol)가 사람에서 랫트 보다 약 2배 정도 높은 것으로 알려져 있는데 (Oesch et al, 1974) Clime 등(1981b)의 연구에서는 BADGE를 투여한 후 BADGE epoxide hydratase activity의 수준이 사람 수준으로 높아진다고 보고하였

다. 따라서 BADGE가 생체 내로 유입된 후 간에서 대사 과정을 거치면서 정상 수준의 효소 유도 또는 간 손상을 유발할 가능성도 있다. 그러므로 BADGE가 간을 포함한 장기에 미치는 영향을 명확히 규명하기 위해서는 체내 대사 과정과 세포하 수준의 변화에 관한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

생식기관 중 전립샘의 경우 BADGE 4000 mg/kg/day투여군의 절대 무게가 대조군에 비해 감소하였으나, 몸무게로 보정한 후 관찰한 상대 무게는 BADGE 8000 mg/kg/day 투여군과 대조군 사이에 유의한 차이가 관찰되었다. 그러나 다른 생식기관(고환과 부고환)은 대조군과 BADGE 투여군에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 이것은 BADGE 합성에 사용되는 BPA를 200 mg/kg/day의 농도로 랫트에 투여한 결과 정낭과 전립샘의 무게가 감소하였으나 고환과 부고환에서는 특별한 영향이 관찰되지 않은 Takahashi와 Oishi(2003)의 연구 결과와 연관지어 볼 때 전립샘에는 영향을 나타내는 것으로 생각할 수 있다.

한편, SCF(2003)는 BADGE가 포유류를 이용한 동물 실험에서 생식기 계통에 특별한 영향을 나타내지 않는다고 보고하였으나 2년 동안 1000 mg/kg/day 수준 이하로 반복 투여한 연구에서는(Stebbins & Dryzga, 2001) 수컷 랫트의 세정관에서 정자 수가 감소하였는데, 특히 일부에서는 40~50% 정도의 정자 수의 감소를 보고하여 BADGE의 생식기계 독성 유발 농도에 관해서 연구자마다 다른 의견을 보였다. 그러나 본 연구에서는 BADGE를 다양한 농도로 단회 투여한 후 관찰한 간과 전립샘의 무게가 대조군에 비해 감소하였고 고환의 조직학적인 변화 등이 관찰되었으며, 내분비계 장애물질로 잘 알려진DES를 양성 대조군으로 선정하여 랫트에 투여한 후 BADGE 투여군의 결과와 비교한 결과 모든BADGE 투여군의 고환과 부고환에서 측정된 정자 운동성과 정자

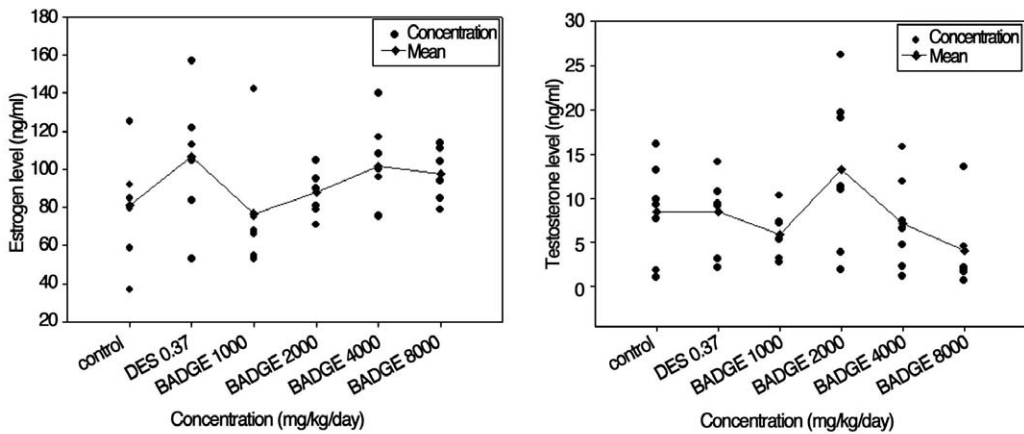


Fig. 4. Comparison of estrogen and testosterone level in all treatment groups. Statistically significant differences between control and treatment groups by Student's t-test were not found.

요 약

수가 DES군과 비슷한 수준으로 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타냈다. 그러나 감소 수준이 BADGE투여 농도와 양-반응 관계를 나타내진 않았는데 이는 각 군당 총 7 마리 중 3마리만을 임의로 선정하여 관찰한 결과이므로 대상수가 너무 적었기 때문이라고 생각한다. 이러한 결과는 BADGE가 용량과 관련이 없는 내분비계 장애물질임을 시사하는 것이다.

BADGE의 원재료인 BPA를 물이나 피하주사로 투여 후 관찰한 혈장 테스토스테론 농도는 감소하였으나 (Takao et al, 1999; Tohei et al, 2001) 식이로 투여한 경우는 변화가 없다고 보고하였다(Takahashi & Oishi, 2003). 본 실험에서 혈장 내 테스토스테론과 에스트로겐 농도는 모든 투여군과 대조군 간에 차이가 관찰되지 않았는데 이 결과는 BPA 투여 방법의 차이에 의한 것일 수도 있지만 체내에 유입된 BADGE가 3일 내에 분해되어 배출되므로(Climie et al, 1981a) 투여 14일 후에는 혈장 호르몬 농도의 차이를 관찰할 수 없었을 것으로 생각할 수 있다.

현재까지 발표된 많은 연구들에서 BADGE의 음식물과 음식물 유사물질에 대한 specific migration limit (SML)을 1 mg/kg으로 보고하였고, acceptable daily intake (ADI)와 tolerable daily intake (TDI)는 평가할 수 없다고 분류하였다(SCF, 1988). 또한 2004년 8월 유럽공동체 위원회는 SML을 1 mg/kg에서 9 mg/kg으로 올리는 규정의 입안을 주장하였다(EC, 2004). 또한, 음식 소비량을 기초로 계산하였을 경우 일반 사람이 캔 속의 음식물로부터 섭취할 수 있는 BADGE량은 일반적으로 3 µg/kg/day을 넘지 않는 것으로 보고하였다(CTCF, 1997). 그러나 “최악의 경우”로 9.3 mg/kg의 BADGE를 가지고 있는 지중해산 멸치를 55 kg 정도의 여성이 하루 50 g 정도의 멸치를 섭취할 경우 체내에 축적될 수 있는 BADGE 양은 8.4 mg/kg/day로 보고되었다(SCF, 1999). 그러나 현재까지 BADGE의 no observed effect level(NOEL)과 no observed adverse effect level(NOAEL)은 판명되지 않았고 인체에 대한 영향과 대사에 관한 연구는 드물게 보고되고 있으나 이러한 자료 수집을 위한 동물실험 연구들은 아직까지 GLP 지침(OECD, 2005)에 따라서 수행되지 않았다. 이에 반해 본 연구는 GLP 지침에 맞춰서 수행된 최초의 연구이다.

결론적으로 BADGE를 단회 투여한 본 연구에서는 1000 mg/kg/day부터 랫트의 생식기계 독성을 포함한 임상학적인 변화가 관찰되어 추후 연구에서는 1000 mg/kg/day 수준 이하에서 나타나는 영향, 장기의 손상 기전과 BADGE의 대사 기전에 대한 연구가 수행되어야 할 것이다.

목적: 본 연구는 BADGE의 경구 투여에 의한 급성 독성학적 연구를 수행하여 기존의 연구 결과를 확인하고 추후 내분비계 장애 연구에 필요한 기초자료를 얻고자 하였다.

방법: 수컷 SD 랫트에 0, 1000, 2000, 4000과 8000 mg/kg/day의 BADGE와 DES 0.37 mg/kg/day의 농도를 단회 경구로 투여한 후 14일간 일반 증상 등을 관찰하였고 14일 후 부검하였다.

결과: BADGE를 투여한 모든 군에서 투여 후 3일째에 설사와 다른 일반 증상들이 관찰되었고 체중도 감소하는 경향을 보였다. 특히 8000 mg/kg/day의 BADGE를 투여한 랫트에서 투여 후 3일째에 대조군에 비해 유의한 수준으로 체중이 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 일부 BADGE 투여군에서 대조군에 비해 심장(1000, 2000과 4000 mg/kg/day), 간(1000, 2000, 4000과 8000 mg/kg/day)과 전립샘(4000 mg/kg/day)의 무게의 감소가 관찰되었다. BADGE 투여군의 간(1000과 4000 mg/kg/day)과 전립샘(8000 mg/kg/day)의 상대 무게가 대조군과 차이를 보였다. 고환을 제외한 모든 장기에서 조직학적인 변화는 관찰되지 않았으며 고환에서는 세 정관에서 정자세포의 감소가 관찰되었다. 고환과 부고환의 sperm head 수를 보면, 고환에서만 감소하는 경향을 보였으며 정자의 운동성과 기형은 대조군과 차이가 없었다. 혈장 에스트로겐과 테스토스테론 농도는 대조군과 모든 투여군 간의 유의한 차이가 없었다.

결론: BADGE를 랫트에 경구 투여 하였을 때 1000 mg/kg/day의 수준에서도 일반 독성 및 생식독성을 유발시킬 수 있음을 보여준다.

참고문헌

- Basler W, Gfeller W, Zak F, Skorpil V. 28 Days Subacute Oral Toxicity Study in Rats. GU Project No. 830199, Test Article TK 10490. ID# 13722 (Basle:Ciba Geigy). 1984.
- Canadian Center for Occupational Health and Safety (CCOHS). BADGE (Bisphenol A diglycidyl ether). Available: <http://intox.org/databank/documents/chemical/bisphen/cie780.htm>[cited 2004].
- Choi JC, Kyung SH, Lee GT, Lee KH. Simultaneous analysis method of BPA, BPF, BADGE, BFDGE and their degradation products in canned foods and food stimulants by HPLC. Korean J Food Sci Tech 2002;34:174-9.(Korean)
- Chung MK and Kim JC. A study on the spermatotoxicity evaluation in rats. Korean J Toxicol 1995;11(1):69-75.(Korean)
- Climie IJ, Hutson DH, Stoydin G. Metabolism of the epoxy resin component 2,2 bis[4 (2,3 epoxypropoxy)phenyl]propane,

- the diglycidyl ether of bisphenol A(DGEBPA) in the mouse: Part I. A comparison of the fate of a single dermal application and of a single oral dose of 14C DGEBPA. *Xenobiotica* 1981a;11(6):391-9.
- Climie IJ, Hutson DH, Stoydin G. Metabolism of the epoxy resin component 2,2 bis[4 (2,3 epoxypropoxy)phenyl]propane, the diglycidyl ether of bisphenol A(DGEBPA) in the mouse: Part II. Identification of metabolites in urine and feces following a single oral dose of 14C DGEBPA. *Xenobiotica* 1981b;11(6):401-24.
- Committee on toxicity of Chemicals in Food, Consumer products and the environment. Statement on bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) in canned foods. Department of Health. London. 1997.
- Fisher JS, Turner KJ, Brown D, Sharpe RM. Effect of neonatal exposure to estrogenic compounds on development of the excurrent ducts of the rat testis through puberty to adulthood. *Environ Health Perspect* 1999;107:397-405.
- Gandara J. Selection of can coatings for different applications. *Food Rev Inter* 1999;15:121-37.
- Hammarling L, Gustavsson H, Svensson K, Oskarsson. A migration of bisphenol A diglycidyl ether(BADGE) and its reaction products in canned foods. *Food Addit Contam* 2000;17:937-43.
- Hine CH, Kodama JK, Anderson HH, Simonson DW, Wellington JS. The toxicology of epoxy resins. *AMA Arch Ind Health* 1958;17:129-44.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Bisphenol A diglycidyl ether 1999;71:1285.
- Inoue K, Yamaguchi A, Wada M, Yoshimura Y, Makino T, Nakazawa H. Quantitative detection of bisphenol A and bisphenol A diglycidyl ether metabolites in human plasma by liquid chromatography electrospray mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2001;765:121-6.
- Oesch F. *Progress in Drug Metabolism*. John Wiley. 1979. pp 253.
- Organization for Economic Co operation and Development (OECD). Good laboratory practice (GLP) guideline. Available: http://www.oecd.org/department/0,2688,en_2649_34381_1_1_1_1_1,00.html[cited 2005].
- Poole A, van Herwijene P, Weideli H, Thomas MC, Ransbotyn G and Vance C. Review of the toxicology, Human exposure and safety assessment for bisphenol A diglycidyl ether (BADGE). *Food Addit Contam* 2004;21:905-19.
- Pulgar R, Olea Serrano MF, Novillo Fertrell A, Rivas A, Pazos P, Vicente Pedaza, Jose Manuel Navajas, Nicolas Olea. Determination of bisphenol A and related aromatic compounds released from bis GMA based composites and sealants by high performance liquid chromatography. *Environ Health Perspect* 2000;108:21-7.
- Scientific Committee on Food (SCF). Opinion of the Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE) on "Two Study Reports on Endocrine Disrupters by WRc NSF and BKH Consulting Engineers". European Commission. 2003.
- Scientific Committee on Food (SCF). Statement of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A Diglycidyl Ether(BADGE). European Commission. 2002.
- Scientific Committee on Food (SCF). Opinion on Bisphenol A Diglycidyl Ether (BADGE). European Commission. 1999.
- Stebbins KE, Dryzga MD. Bisphenol A Diglycidyl Ether (BADGE): Two Year Gavage Chronic Toxicity Oncogenicity Study in Fischer 344 Rats. Study ID: 011134 (Midland: Dow Chemical Co.). 2003.
- Takahashi O, Oishi S. Testicular toxicity of dietary or parenterally administered bisphenol A in rats and mice. *Food Chem Toxicol* 2003;41:1035-44.
- Takao T, Nanamiya W, Nagano I, Asaba K, Kawabata K, Hashimoto K. Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. *Life Sci* 1999;65:2351-7.
- Tohei A, Suda S, Taya K, Hashimoto T, Kogo H. Bisphenol A inhibits testicular functions and increases luteinizing hormone secretion in adult male rats. *Exp Bio Med* 2001;226:216-21.
- Wolf MA. Unpublished Report(Midland: Dow Chemical Co.). 1958.
- World Wildlife Fund(WWF). Bisphenol A. A WWF European Toxics Programme Report. Available: <http://www.panda.org/downloads/toxics/bisphenol.pdf> [cited 2000].