

Effect of Several Endocrine Disrupting Compound on Mammary Gland Carcinogenesis in c-Ha-ras-transgenic Rats

Bum-Sup Han

National Institute of Toxicological Research, KFDA

발암성시험연구에 사용되고 있는 형질전환 동물들은 랫드와 마우스 등이 있는데, 그 중 c-Ha-ras proto-oncogene 마우스 (ras H2 mice), v-Ha-ras 형질전환 마우스 (Tg.AC mice), pim-1 형질전환 마우스 및 p53 knockout 마우스 등이 발암유발물질에 감수성이 높아 현재 중기발암성시험에 이용되고 있다. 그러나 화학적 발암유발물질에 의한 발암화 과정 연구에서 전암단계병변에 관한 생물학적 지표인자에 관한 보고가 마우스보다는 랫드가 많아 중기발암성 시험연구에서 실제적으로 랫드가 많이 이용되고 있다. 다만 현재 형질전환 랫드는 아직 개발이 안되어 제한적으로 이용되고 있는 실정이다. GST-P promoter 유전자에 chloramphenicol 유전자를 융합한 형질전환 랫드가 간발암화과정에 관한 연구로 이용되고 있고, 최근에는 c-Ha-ras proto-oncogene 을 갖고 있는 형질전환 랫드가 유선암, 피부암 및 방광암에 감수성이 높은 것으로 보고되어 있다. 본 연구는 c-Ha-ras proto-oncogene 형질전환 랫드를 이용하여 natural estrogen인 17-estradiol 과 최근 관심이 되고 있는 내분비계장애물질 (octylphenol, nonylphenol, atrazine, genistein)들의 유선암 수식효과에 관한 연구를 수행하였다.

1. 17-estradiol (E2)과 4-n-octylphenol (4nOP)

본 연구는 natural estrogen인 E2와 estrogen 작용을 가진 4nOP가 유선암과 피부암에 감수성이 높은 형질전환(Tg) 랫드에서 어떠한 발암수식효과를 나타내는가를 알아보려고 수행하였다. 50 일령의 암컷과 수컷의 Tg 및 non-Tg 랫드에 체중 kg당 25mg의 dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)를 단회 경구투여한 다음 silastic tube에 E2를 0.01, 0.1 및 1.0mg씩 넣어 랫드의 견갑부위에 피하이식 하였고, 4nOP를 100 및 1000 ppm 농도로 사료에 섞어 암컷은 12주동안 수컷은 20주동안 급여하였다. 암컷의 Tg 및 non-Tg 유선의 종양발생빈도 및 수는 E2 투여군이 대조군에 비하여 용량의존적으로 유의성있게 감소하였다. 100 ppm 4nOP 투여한 Tg 랫드의 유선종양수는 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다 ($P < 0.001$). 수컷 Tg 랫드의 피부종양발생빈도 특히 유두종의 발생빈도는 E2 투여군이 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다 ($P < 0.05$). 그러나 0.01mg E2를 투여한 Tg 랫드의 유선종양발생빈도는 대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다 ($P < 0.05$). *In vitro* 실험에서 E2는 10^{-11} - 10^{-9} M에서 estrogen receptor 양성 유선암세포인 MCF-7 및 T47D 세포의 성장을 촉진하고, 4nOP는 10^{-7} - 10^{-5} M에서 T47D 세포의 성장을 촉진하였다. 고용량의 E2와 4nOP가 Tg와 Non-Tg 랫드의

유선종양발달을 억제한 이 실험의 결과를 종합하면 1) 고농도의 E2와 estrogen의 특성을 갖고 있는 4nOP는 반드시 유선종양형성을 촉진하지는 않으며, 2) 저농도의 E2는 난소호르몬의 영향이 없는 상태에서는 유선종양형성을 촉진할 가능성이 있으며, 3) Tg 랫드는 estrogen 작용을 갖는 환경물질의 유선암 수식효과에 좋은 모델동물로 이용될 수 있다.

2. Genistein

본 연구는 콩의 isoflavonoid에 있는 주성분인 genistein이 유선과 피부에 감수성이 높은 형질전환(Tg)랫드에서 어떠한 발암수식효과를 나타내는가를 알아보고자 수행하였다. 50일령의 암컷과 수컷의 Tg 및 non-Tg 랫드에 체중 kg당 25mg의 DMBA를 단회 경구투여한 다음 genistein을 25, 250 ppm의 농도로 estrogen 성분이 배제된 사료에 섞어 급여하였다. 암컷은 12주에 수컷은 20주에 부검하여 유선과 피부의 종양발생빈도 및 종양수를 관찰하였다. 암컷 Tg 랫드에서 유선 선암종의 종양발생빈도 및 발생수는 250 ppm genistein 투여군이 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다($P < 0.05$, $P < 0.01$). 암컷의 non-Tg 랫드에서도 250 ppm의 genistein 투여군의 유선종양발생빈도가 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다($P < 0.01$). 또한 선종과 선암종의 발생빈도도 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다($P < 0.05$). 체중과 장기중량에 있어서 각 군간의 유의성 있는 결과는 없었다. *In vitro* 실험에서 genistein은 ras protein의 expression을 감소시켰으며 ras 유래 암세포에서 30-300 μ M genistein이 세포성장을 억제하였다. 이 실험의 결과를 종합하면 genistein은 Tg 및 Non-Tg의 유선종양발생을 억제하였으며 그 기전은 종양성장에 주역할을 하는 ras protein의 발현 및 이와 관련된 암세포의 성장을 억제하는 것으로 사료된다. 그리고 인체의 c-Ha-ras proto-oncogene Tg 랫드는 genistein과 같은 phytoestrogen의 유선암 수식효과에 관한 좋은 모델로 이용될 수 있다.

3. Atrazine 과 Nonylphenol

본 연구는 estrogen 작용이 있는 환경물질인 atrazine과 nonylphenol이 유선암과 피부암에 감수성이 높은 Tg 랫드에서 어떠한 발암수식효과를 나타내는가를 알아보고자 수행하였다. 50일령의 암컷과 수컷의 Tg 및 non-Tg 랫드에 체중 kg당 25mg의 DMBA를 단회 경구투여한 다음 5, 50, 500 ppm의 atrazine과 10, 25, 100, 250 ppm의 nonylphenol을 사료에 혼합하여 암컷은 8주동안 수컷은 20주간 급여하였다. 5, 50 ppm atrazine의 유선의 선암종 발생빈도가 대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다($P < 0.05$). 5 ppm atrazine은 유선의 선종 발생빈도도 유의성있게 증가하였다($P < 0.05$). Nonylphenol은 저농도인 10 ppm에서 유선의 종양발생수에 있어서 유의성있게 증가하였다 ($P < 0.05$). 수컷의 Tg 랫드에서 500 ppm의 atrazine은 피부종양의 수 및 유두종의 수가 유의성있게 감소하였다($P < 0.05$). 이 실험의 결과를 종합하면 atrazine과 nonylphenol은 저농도에서는 유선종양의 발생을 촉진한다. 그러나 고농도의 atrazine의 경우는 피부종양의 발생을 억제하는 것

으로 나타났다. nonylphenol의 수컷의 피부암 및 유선암에 관한 연구는 아직 진행중이다.

4. 결 론

이상의 결과로 볼 때 Tg 랫드는 유선암 및 피부암을 조기에 발생시켜 유용한 화학적 발암모델동물로 이용될 수 있으며 이 동물을 이용하여 각종의 화합물이나 환경오염물질의 유선암 및 피부암의 발암수식효과에 대한 연구를 단기간에 수행할 수 있다.