

## Paraquat 및 Bentazone의 세포독성과 흰쥐 간에서 3-Methylcholanthrene의 독성경감효과

임요섭\* · 한두석<sup>1)</sup>

순천대학교 농업생명과학대학 환경농업과학부\*, 원광대학교 치과대학 구강해부학교실<sup>1)</sup>

(2001년 5월 25일 접수, 2001년 7월 27일 수리)

### Cytotoxicity of Paraquat or Bentazone and Compensatory Effects of 3-Methylcholanthrene on the Rat Liver

Yo-Sup Rim\* and Du Seok Han<sup>1)</sup> (Division of Environment and Agricultural Science, College of Agriculture and Life Sciences, Suncheon National University, Chonnam 540-742, Korea, <sup>1)</sup>Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea)

**ABSTRACT** : This study was carried out to investigate cytotoxicity of paraquat or bentazone on NIH 3T3 fibroblasts, toxicity of paraquat or bentazone, and compensatory effects of 3-Methylcholanthrene(3-MC) on the rat liver. In order to MTT assay, the  $5.0 \times 10^4$  cell/mL of NIH 3T3 fibroblast in each well of 24 multidish were cultured. After 24 hours, the cells were treated with solution of paraquat or bentazone(1, 25, 50, 100  $\mu$ M respectively). After the NIH 3T3 fibroblast of all groups were cultured in same condition for 48 hours. MTT assay were performed to evaluate the cytotoxicity of cell organelles. Paraquat or bentazone MTT<sub>50</sub> were 1668.97  $\mu$ M and 1506.97  $\mu$ M, respectively. These IC<sub>50</sub> of paraquat or bentazone were decided low cytotoxicity by Borenfreund. In order to observe the toxicity and compensatory effects of paraquat or bentazone on the rat liver, Sprague-Dawley male rats were used as experimental animals and divided into paraquat or bentazone only treated group and simultaneous application group of paraquat or bentazone and 3-MC. At 30 min and 1, 3, 6, 12, 24, 48 and 96 hrs interval after each treatment, the animals were sacrificed by decapitation and liver were immediately removed, immersed in fixatives, and processed with routine method for light microscopic study. Paraffin sections were stained with H-E, PAM and Best Carmine. Under the light microscope, degenerative changes of hepatic lobules were frequently observed in portal area from 3 hrs after paraquat or bentazone treatment. All hepatic cells were induced degenerative change at 12 hrs and more severe degenerative change at 48 hrs after paraquat or bentazone treatment. Especially, hepatic cells of bentazone only treated group were distinctly showed pyknotic. Glycogen granules were increased in portal area at 3 hrs, all hepatic cells at 12 hrs and remarkably increased at 48 hrs after paraquat or bentazone treated group. But hepatic cells of bentazone only treated group were regeneration at 48 hrs from portal area and glycogen granules of hepatic cells of paraquat or bentazone and 3-MC combination treated group showed in central area only at 48 hrs. The results indicate that 3-MC may be decrease paraquat or bentazone cytotoxicity on the rat liver.

**Key words** : NIH 3T3 fibroblast, paraquat and bentazone, 3-methylcholanthrene(3-MC), PAM stain, best carmine stain.

### 서 론

Paraquat(1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride)는 세계 130 개 이상의 국가에서 사용되고 있는 비선택적인 제초제로서  $\mu$ M 농도에서는 저독성을 나타내지만<sup>1)</sup> 사람이 다량 음독하게 되면 생

명을 잃기 때문에 사회적으로 큰 문제가 되고 있다<sup>2,3)</sup>. 잡초를 제거하기 위하여 농토 뿐만 아니라 산야에도 살포하기 때문에 환경에 심각한 문제를 일으킬 것으로 생각되며 환경호르몬으로 작용할 가능성도 있다. Paraquat은 피부노출이나 흡입에 의하여 동물체에 나타내는 증상은 거의 없지만 비경구적(parenteral) 또는 경구(oral routes) 투여시에는 70% 이상의 치사율을 나타낸다고 보고되었다<sup>4,5)</sup>. Paraquat를 경구투여하면 일부분이 위장관에 의하여 흡수되어 신장에서 화학적 변화없이 대부분은 배출되며 근위곡세

\*연락처:

Tel: +82-61-750-3296 Fax: +82-61-752-8011

E-mail: ysrim@suncheon.ac.kr

노란 상피세포의 손상과 신부전증(renal failure)을 일으키고<sup>6)</sup> 폐에 축적되어 폐조직의 섬유화를 일으켜 결국 치사에 이르게 된다<sup>7)</sup>. Bentazone(3-isopropyl-1H-2,1,3-benzothiadiazin-4(3H)-one 2,2-dioxide)은 경엽처리용 제초제(광합성 저해제)로 토양에 다량으로 사용되고 있으나 수착력(sorption)이 낮고<sup>8,11)</sup>, 저독성이기 때문에 사용하는데 있어서 국가기관이나 농민들은 쉽게 생각할 수 있지만 환경에 미치는 영향은 오히려 클 수도 있다.

3-Methylcholanthrene (3-MC)은 포유동물에서 monooxygenase의 양적변화를 유도하는 효소 유도제로서 생쥐에서는 3-MC가 유전적으로 monooxygenase의 양을 조절하고<sup>12)</sup>, 포유동물에서는 polycyclic aromatic hydrocarbons(PAH)을 유도할 수 있는 혈액 단백질(hemoprotein)로 분류하고 있다. Statham 등<sup>13)</sup>은 PAH를 어류에 노출시키면 monooxygenase의 활성을 상승시키고 때로는 cytochrome P-450 효소계의 양도 상승시킨다고 보고하였고 최근에는 3-MC가 흰쥐 간의 cytosol에 존재하는 54-KDa 단백질에 유의하게 증가시킨다고 보고하였다<sup>14,15)</sup>.

이에 저자는 paraquat와 bentazone의 세포독성을 알아보기 위하여 paraquat와 bentazone의  $\mu$ M 농도를 건강세포인 NIH 3T3 섬유모세포에 적용한 후 세포독성평가에 많이 이용되는 MTT 정량분석법으로 세포독성을 측정하였다. 또한 paraquat와 bentazone을 흰쥐에 경구적으로 투여한 후 경시적으로 간조직에 나타내는 독성을 현미경으로 관찰하였으며 3-MC도 동시에 투여하면서 간조직에 나타내는 독성경감효과도 관찰하여 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 기기

시험 농약인 제초제 paraquat (1,1'-dimethyl-4, 4'-bipyridinium dichloride, 순도: 99%)와 bentazone (3-isopropyl-1H-2,1,3-benzothiadiazin-4(3H)-one 2,2-dioxide, 순도: 99%)의 표준품을 Kanto Chemical Co.(Japan)에서, 그리고 MTT정량에 사용한 시약은 Sigma Chemical Co.(U.S.A)에서, 세포배양액에 사용한 Eagle's minimum essential medium (EMEM), fetal bovine serum (FBS), penicillin G, streptomycin, 및 fungizone은 Gibco Chemical Co.(USA)제품의 GR급을, 기타 시약은 특급시약을 구입하여 실험을 수행하였다. 기기는 CO<sub>2</sub> incubator와 Turk형 혈구계산기는 Shellab Co.(USA)제품을, well multidish와 microplate reader (Molecular devices)는 Nunclon Co.(USA)제품을, 도립현미경은 (inverted microscope, Olympus Co. Japan) 제품을 사용하였고 MTT정량은 ELISA reader(Spectra Max 250, USA)를 사용하였다.

### 실험관내 실험 (In vitro)

#### 세포배양

각 제초제의 세포독성을 시험하기 위하여 원광대학교 의과대학 해부학 교실에서 분양 받은 NIH 3T3 세포(mouse skin fibroblast)

를 배양용기(25 cm<sup>2</sup> flask, Nunc)에서 배양하여 사용하였다. 세포 배양액은 EMEM에 10% FBS와 penicillin G(25 unit/mL), streptomycin(25  $\mu$ g/mL) 및 fungizone(25  $\mu$ g/mL)을 넣어 조제하였고, 세포는 온도 37°C, 습도 95%, 탄산가스 농도 5%로 조절된 항온기(CO<sub>2</sub> incubator)내에서 배양하였으며 배양액은 3일마다 교환하였다. 실험을 위한 세포부유액은 1차 배양한 flask의 세포를 0.25% trypsin으로 처리하여 Turk형 혈구계산기를 이용하여 세포수가 2.0×10<sup>4</sup> cell/mL가 되도록 만들었고, 이 세포부유액을 세포배양용 well multidish에 well당 2 mL씩 분주하여 배양하였다.

#### MTT 정량

Mosmann의 방법<sup>16)</sup>에 의하여, 24시간 세포를 배양한 각 well에 2×10<sup>4</sup> cells를 넣고 동시에 MG를 농도별(1, 25, 50, 100  $\mu$ M)로 첨가된 배양액에서 48시간 배양한 후, 분석 당일 조제한 MTT (Sigma) 50  $\mu$ g/mL가 포함된 배양액을 well당 1 mL씩 넣어 3시간 배양하였다. 배양 후 배양액을 버리고, dimethylsulfoxide (DMSO)를 2 mL/well씩 넣어 5분간 실온 방치하여 MTT formazan을 용해한 후, ELISA reader(Spectra Max 250, USA)로 MTT의 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

#### IC<sub>50</sub> 결정

Paraquat와 bentazone의 IC<sub>50</sub> 결정은 배양중인 NIH 3T3 섬유모세포의 각 well당 1, 25, 50, 100  $\mu$ M의 제초제들을 첨가하여 48시간 배양한 후 MTT 정량을 하여 제초제가 이들 각각에 대한 50% 억제농도인 IC<sub>50</sub>을 회귀적선식<sup>17)</sup>에 의해 구하였다.

### 생체내 실험 (In vivo)

#### 실험 동물 및 실험군 배정

본 실험에 사용될 실험동물은 대한실험동물센터 (충북음성)에서 번식 사육한 80~100 g의 SPF albino rat(웅성 Sprague-Dawley계)를 구입하여 실험실 조건으로 2주간 순화시킨 후 체중 180~200 g의 쥐만을 선별하여 공사하여, 제초제 1종당 무처리군과 5개의 실험군 즉 제초제 LD<sub>50</sub> 투여군, 3-methylcholanthrene (3-MC) 60 mg/kg 투여군과 제초제 + 3-MC 조합군으로 나누었다. 대조군 및 각 실험군의 신장의 세포변화를 경시적으로 (0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 96 hr) 조사하기 위해 각 실험군 당 8마리씩 3반복으로 배정하여 제초제 1종당 100마리 씩 200마리와 예비용 50마리를 합하여 총 250마리의 흰쥐를 사용하였다. 제초제만을 처리한 실험군에서의 치사된 쥐는 즉시 제거한 후 생존한 쥐만을 실험에 사용하고 실험실 조건은 온도 23±1°C, 습도 55~60%, 광도는 인공 조명으로 명암을 각각 12시간으로 조절하며 삼양식품 흰쥐용 사료(제 322-4호)와 1차 증류수를 일정량씩 공급하여 자유로이 섭취할 수 있도록 하였고 깔짚은 3일을 주기로 교체하여 분비물로 인한 스트레스를 방지하였다.

**Table 1. The cytotoxicity of paraquat and bentazone by MTT assay in NIH3T3 Cells**

Group	Paraquat		Bentazone	
Concentration	Mean±S.D. (% of control)		Mean±S.D. (% of control)	
control	4.15±0.00	(100)	4.16±0.00	(100)
1	4.15±0.00	(100)	4.16±0.00	(100)
25	4.13±0.00	(99.4)	4.13±0.05	(99.4)
50	4.10±0.00	(98.6)	4.06±0.13	(97.7)
100	4.03±0.11	(97.0)	4.03±0.16	(97.0)
IC <sub>50</sub>	1668.97 μM		1506.97 μM	

Cells were incubated for 48 hrs. The cells were harvested with trypsin-EDTA. The values represent the mean ± standard deviations for triplicate experiments.

#### 약물투여

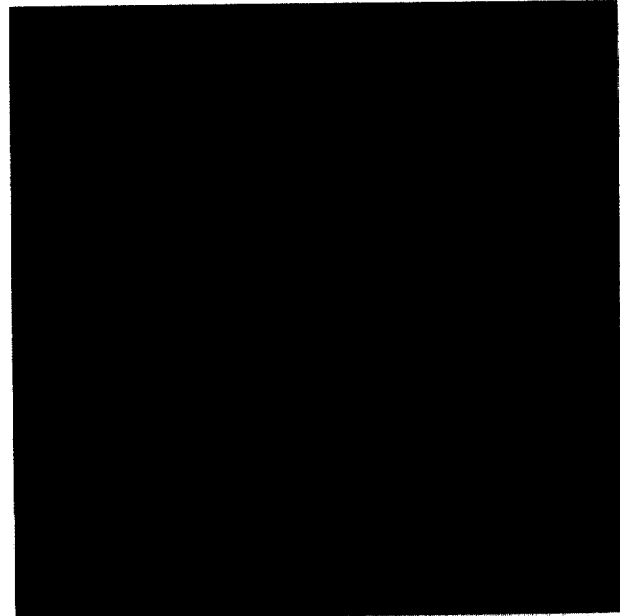
각각의 제초제의 LD<sub>50</sub>가 되는 양은 dimethylsulfoxide(DMSO) 0.5 mL에, 3-MC는 corn oil 0.5 mL에 각각 용해시킨 working solution을 재투여하여 경시적으로 조사하였으며 제초제와 3-MC의 단독 투여군은 각각 상기한 0.5 mL의 약량만을 경구투여용 주사기로 1회 경구투여 하고 조합 투여군은 제초제 투여 30분 후 3-MC의 각각 전술한 약량을 1회 재투여하여 경시적으로 조사하였으며, 무처리 대조군에는 DMSO와 saline또는 corn oil을 각각 단독 또는 조합으로 0.5 mL씩을 경구 투여하였다.

#### 표본제작

약제투여후 각 실험군의 동물을 경시적으로 채취하여 ether로 마취시킨 다음 흰쥐의 머리와 복벽을 절개하여 간을 적출한 뒤 4~5 mm의 두께로 잘라 4℃의 10% NBF(neutral buffered formalin) 고정액에 48시간 고정 후 흐르는 물에 48시간 수세하였다. 수세한 조직은 농도 상승순으로 50, 60, 70, 80, 90, 95, 100%의 에틸 알콜 용액에 차례로 담구어 탈수한 후 xylene을 사용한 투명과정을 거치고 parafilm에 wax를 씌워 블록을 만들어 (포매) 냉동시켜 사용하였다. 포매된 조직은 microtome(독일 Leitz사)을 이용 6 μm의 두께로 자른 다음 gelatin이 들어 있는 48~50℃의 항온수조에 띄운 후 slide로 떠서 60℃의 신전기에서 건조시킨 조직절편을 hematoxylin-eosin염색과 PAM 염색 및 Best carmine염색을 시행하여 광학현미경(일본 Olympus사)으로 관찰하였다.

#### 관찰 부위

제초제의 독성과 3-MC의 독성 경감효과를 관찰하기 위하여 일반독성 물질에 영향을 많이 받는 것으로 알려진 간의 간소엽(hepatic lobules)을 관찰하였다.



**Fig. 1. Photomicrograph of control rat liver. Normal arrangement of hepatic cells and some Kupffer's cells were shown. PAM stain, × 200.**

## 결과 및 고찰

MTT 분석법에 의한 NIH 3T3 섬유모세포에 대한 세포독성

NIH 3T3 섬유모세포에 paraquat과 bentazone을 여러 농도 (1 μM, 25 μM, 50 μM 및 100 μM)로 적용한 후 MTT 흡광도를 측정하고 대조군의 흡광도를 100%로 하여 농도에 따른 흡광도를 비례적으로 산출한 결과 MTT<sub>50</sub>은 bentazone 3138.81 μM, Paraquat 1506.97 μM이었다(표 1). 이는 Borenfreund 등<sup>10)</sup>의 세포독성 판정기준에 의하여 저독성으로 판정되었다.

#### 생체내 실험 (In vivo) 결과

Monoxygenase의 유도체인 3-MC가 제초제인 paraquat와 pH 조절제인 bentazone의 독성을 경감시킬 수 있는 물질인가를 알아보기 위하여 Sprague Dawley계 SPF albino 흰쥐에 paraquat와 bentazone, 3-MC 단독 및 paraquat와 bentazone 대조군과 3-MC를 병용투여한 후 경시적으로 간(Liver)을 적출하여 조직표본을 만들어 광학현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

#### 대조군

대조군의 간조직은 중심정맥(central vein)이 중앙에 위치한 다각형의 간소엽(hepatic lobule)들이 일정한 크기로 관찰되었으며, 간세포는 간소엽내에서 방사상으로 배열되어 한층 또는 두층의 세포판(cellular plates)을 형성하여 일정하게 배열되었다. 세포판 사이의 공간인 간 동모양혈관(liver sinusoids)은 불규칙하게 연결되어 있고, 동양혈관의 세포벽에는 별모양세포(Kupffer's cells)들이 부착하고 있었으며 약간의 적혈구들도 관찰되었다. 간소엽들

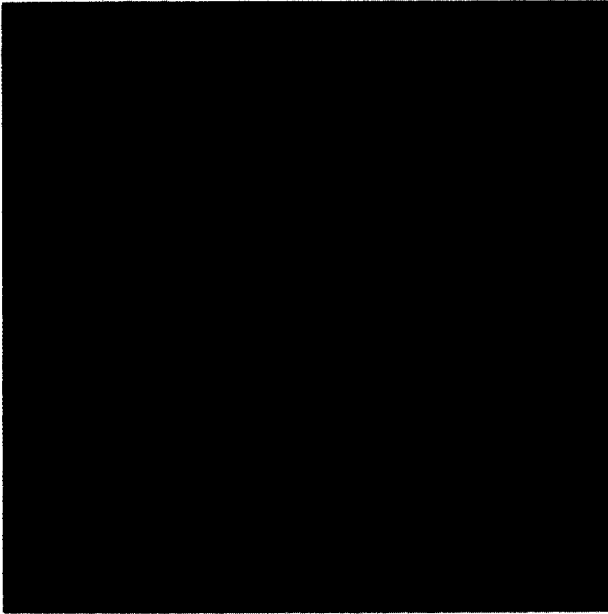


Fig. 2. Photomicrograph of 3 hrs after paraquat administration. Most hepatic cells around portal areal were included many glycogen granules. Best Carmine stain. × 100

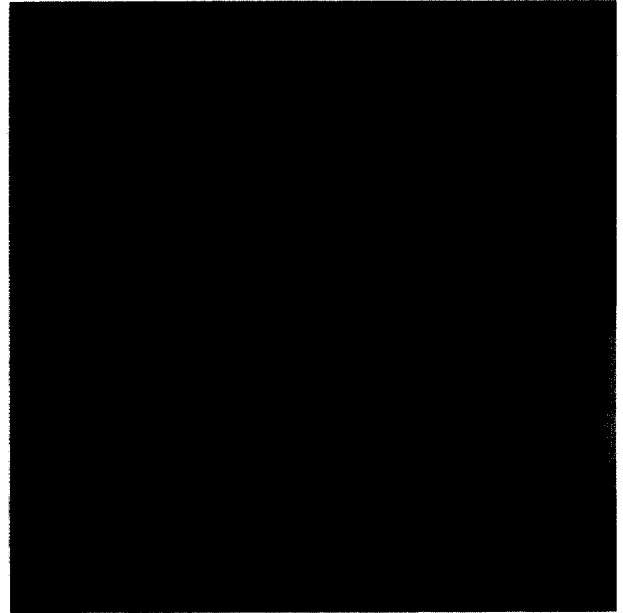


Fig. 4. Photomicrograph of 12 hrs after paraquat administration. Most hepatic cells were included many glycogen granules. Best Carmine stain. × 200

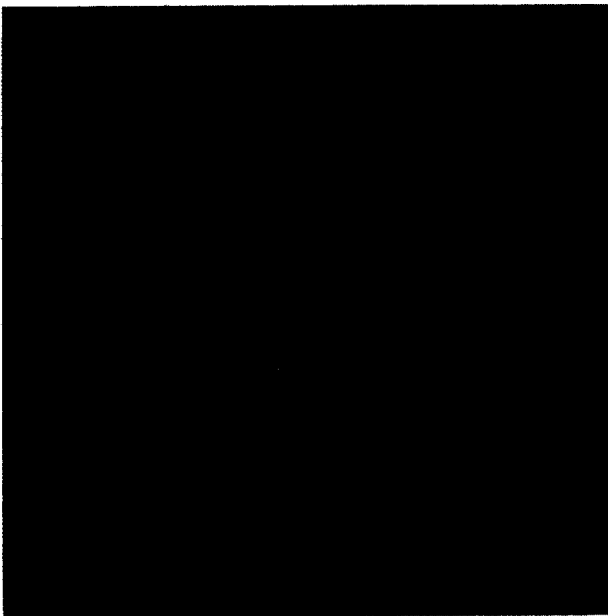


Fig. 3. Photomicrograph of 12 hrs after paraquat administration. Most hepatic cells were included many glycogen granules. Best Carmine stain. × 100

간의 경계에는 결합조직과 간삼조(portal triad)를 이루는 세포들이 치밀하게 분포하고 있어 경계가 뚜렷하였으며 각 모서리에는 뚜렷한 담관과 동·정맥혈관이 관찰되었다(Fig. 1).

Paraquat와 bentazone 투여군

Paraquat LD<sub>25</sub>(250 mg/kg)와 bentazone LD<sub>25</sub>(1197 mg/kg) 단독 투여 후 3시간째부터 중심정맥에 약간의 출혈이 있고 간세포

판의 배열이 뚜렷하지 않았으며 동모양혈관의 공간도 나타나지 않아 심한 변성이 일어나고 있음을 알 수 있었다. 일부의 세포에서는 핵 농축도 관찰되었으며 Best Carmine으로 염색한 조직에서는 문맥주위(portal area)의 간세포들이 glycogen 과립을 함유하고 있었다(Fig. 2). 12시간째에는 중심정맥이 확장되고 심한 출혈이 나타났으며 문맥 주위의 간세포들은 변성에 의하여 염색성이 약해지고 핵 농축현상이 뚜렷하였다. Best Carmine 염색조직에서는 문맥주위에서 중심정맥에 이르는 대부분의 간세포에 glycogen 과립이 함유되고 있었다(Fig. 3, 4). 48시간째에는 중심정맥내에 혈액이 가득찬 상태였고 동모양혈관이 보이지 않았으며 간세포 사이에 결합조직의 증식이 뚜렷하였다. 핵농축현상이 뚜렷하며 세포질이 없는 것처럼 보였다(Fig. 5). Best Carmine 염색조직에서는 간세포 전체에 다량의 glycogen 과립이 함유되어 있었다(Fig. 6).

Paraquat와 bentazone과 3-MC 동시투여군

Paraquat와 bentazone과 3-MC를 동시에 투여한 후 3시간째와 12시간째에는 paraquat와 bentazone 단독투여군과 유사한 조직소견이 나타났으나(Fig. 7, 8), 48시간째에는 중심정맥의 출혈이 감소하였고 중심정맥 주위의 간세포들은 핵농축등 변성이 심하였으나 문맥주위의 간세포들은 변성이 감소되어 H&E 염색이 뚜렷하여지는 경향이 있었다(Fig. 9). Best Carmine 염색소견에서도 중심정맥주위의 간세포들은 glycogen 과립을 다량 함유하고 있었으나 문맥주위 간세포들은 glycogen 과립이 감소되는 경향이 있었다(Fig. 10).

Paraquat와 bentazone이 동물체에 미치는 독성을 알아보기 위하여 건강세포인 NIH 3T3 섬유모세포에 적용한 후 MIT 정량분

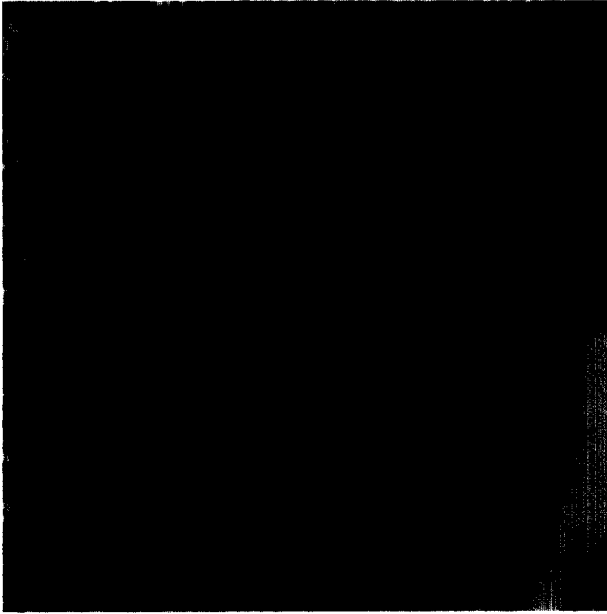


Fig. 5. Photomicrograph of 48 hrs after bentazone administration. Blood cells were full in central vein and sinusoidal sinus not showed. Most hepatic cells showed pyknotics. H&E stain.  $\times 100$

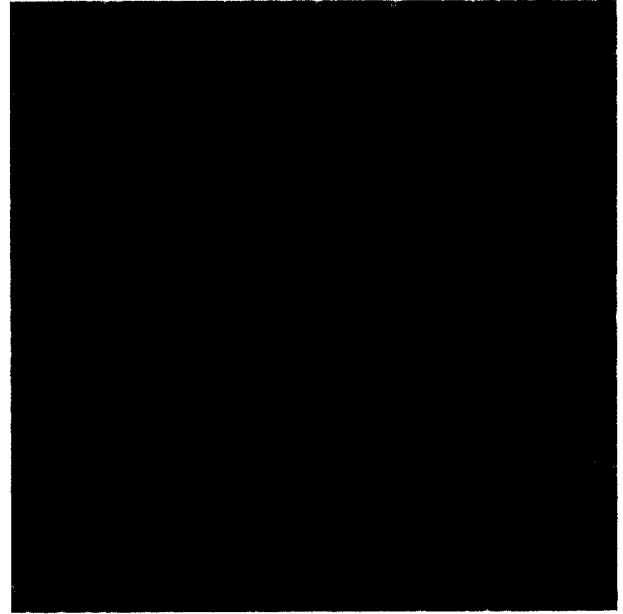


Fig. 7. Photomicrograph of 3 hrs after paraquat and 3-MC administration. Most hepatic cells around portal area were included many glycogen granules. Best Carmine stain.  $\times 100$

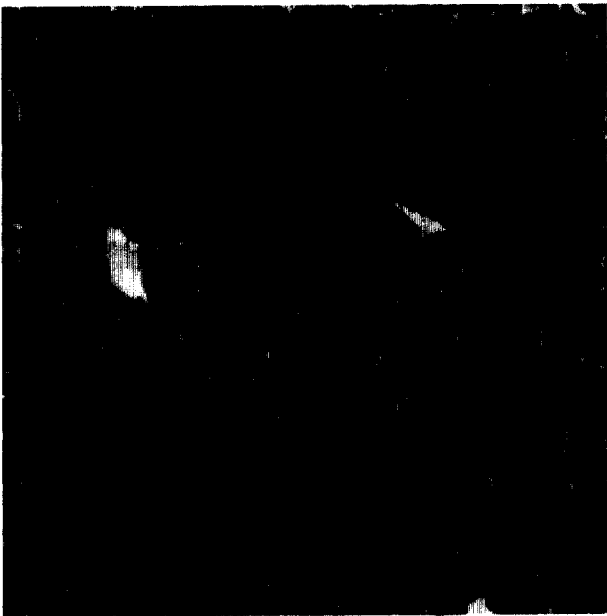


Fig. 6. Photomicrograph of 48 hrs after paraquat administration. All hepatic cells were included much more glycogen granules. Best Carmine stain.  $\times 100$

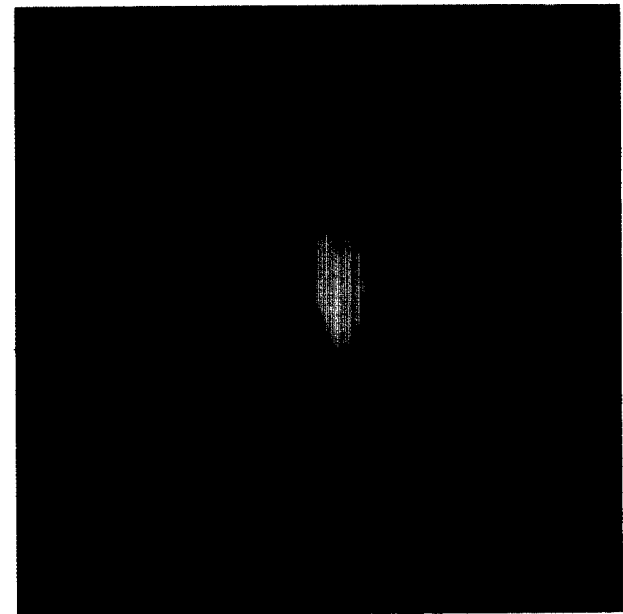


Fig. 8. Photomicrograph of 12 hrs after paraquat and 3-MC administration. Most hepatic cells were included many glycogen granules. Best Carmine stain.  $\times 100$

석법으로 세포독성을 측정한 결과 paraquat의  $IC_{50}$  1668.97  $\mu M$  이고 bentazone의  $IC_{50}$ 은 1506.97  $\mu M$ 이었다. Borenfreund 등<sup>19)</sup>은 MTT의 흡광도를 대조군과 비교하여 세포에 독성을 받기 시작하는 농도를  $MTT_{90}$ 으로 하고, 심한 독성을 받는 농도를  $MTT_{50}$ 으로 결정한 후  $MTT_{50}$ 이 100  $\mu M$ 미만일 때를 고독성, 100  $\mu M$ 과 1000  $\mu M$ 사이일 때를 중간독성, 1000  $\mu M$ 과 2000  $\mu M$ 사이일 때

를 저독성, 2500  $\mu M$ 이상일 때를 무독성으로 독성물질의 판정기준을 제시하였다. 이 기준에 의하면 bentazone과 paraquat는  $IC_{50}$ 값이 모두 1000  $\mu M$ 과 2000  $\mu M$ 사이 에 있어 저독성으로 판정할 수 있다. 세포의 광학현미경적 관찰조건에서도 bentazone과 paraquat는 농도에 따른 변화가 거의 없었다.

이와 같이 paraquat와 bentazone의 세포독성은 저독성으로 나



Fig. 9. Photomicrograph of 48 hrs after bentazone and 3-MC administration. Most hepatic cells around portal area were reduced degenerative changes compared with Fig. 5. H&E stain.  $\times 100$

타나고 paraquat는 비선택적으로 전세계 130개국에서 다량 사용하고 있으며 bentazone은 토양에 수착력이 약하기 때문에 환경오염의 주요인이 될 뿐 아니라 환경호르몬으로 작용한다면 앞으로 인류에 끼칠 영향은 심각할 수도 있을 것이다. 이에 저자들은 paraquat와 bentazone의 독성을 제거할 수 있는 물질을 개발하기 위한 기초연구로 paraquat및 bentazone과 3-MC를 흰쥐에 동시에 투여한 후 3-MC의 독성경감효과를 측정한 결과 3-MC는 시간경과에 따라 간소엽의 조직학적 변성을 감소시킬 뿐 아니라 간세포에 축적되는 glycogen 과립량도 시간경과에 따라 변화를 나타냈다. 즉 3시간째에는 문맥주위에 축적되는 glycogen 과립이, 12시간째에는 간소엽 전체의 세포에, 48시간째에는 중심정맥 주위의 간세포들만이 glycogen 과립을 함유하고 있었으며 paraquat 투여 후 96시간째에는 모든 세포에 glycogen 과립이 다량 함유되어 있었으나 paraquat와 3-MC 동시 투여군에서는 모든 간세포에서 glycogen 과립을 찾아볼 수 없었다. 한 등<sup>20)</sup>은 흰쥐에 carbofuran과 3-MC를 동시에 투여하면 cytochrome P-450 효소계에 작용하여 carbofuran의 독성을 경감시킬 수 있다고 보고하였으며, 3-MC는 monooxygenase를 유도하므로 큰 포식세포가 증가하거나 3-MC에 의하여 직접 큰 포식세포수를 증가시킬 수 있다고 보고하였다.

Best Carmine 염색표본 중 paraquat와 bentazone 단독투여시 시간이 경과함에 따라 glycogen 과립이 증가하고 3-MC를 동시에 투여하면 12시간째까지 증가하다가 48시간째에 현저히 감소한 것은 한 등<sup>21)</sup>과 양 등<sup>22)</sup>의 결과와 일치하며 3-MC는 paraquat와 bentazone에 의하여 생성되는 glycogen 과립을 감소시킬 수 있는

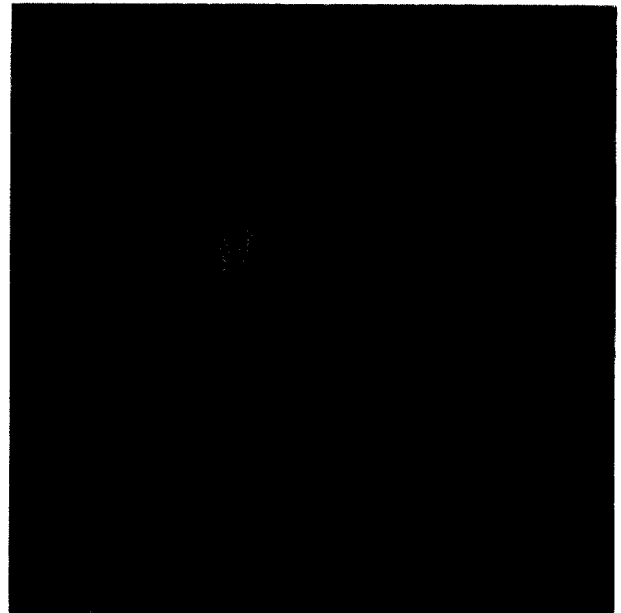


Fig. 10. Photomicrograph of 48 hrs after paraquat and 3-MC administration. Most hepatic cells around central vein were included many glycogen granules. Best Carmine stain.  $\times 100$

물질로 추측된다.

앞으로 간세포에 미치는 독성물질에 대하여 3-MC가 나타내는 독성경감효과는 더욱 다양하게 연구되어야 하고 독성을 경감시키는 기전에 대하여도 보다 많은 연구가 이루어져야 할 것이며 paraquat는 경구 투여시 치사율이 70%에 이르기 때문에 구강조직과 소화기관에 나타내는 독성에 대하여도 연구되어야 할 것이다.

## 요 약

Paraquat와 bentazone이 흰쥐의 간조직과 NIH 3T3 섬유모세포에 미치는 독성과 그 독성에 대한 3-MC의 보상효과를 조사하기 위하여 NIH 3T3 섬유모세포에 적용한 후 경시적으로 MTT분석을 이용하여 세포독성을 측정하고 Sprague Dawley계 웅성 흰쥐에 paraquat와 bentazone단독 및 paraquat 및 bentazone과 3-MC를 병용투여한 후 경시적으로 관찰한 결과 paraquat와 bentazone은 NIH 3T3 섬유모세포에 대하여  $IC_{50}$ 값이 각각  $1668.97 \mu M$ ,  $1506.97 \mu M$ 으로 Borenfreund의 독성평가기준에 의하면 저독성이었다.

Paraquat와 bentazone 단독투여군의 H&E 염색에서 3시간째에는 문맥 주위 세포들이 변성을 일으키고 별모양 세포들이 증가하였으나 12시간째에는 간소엽 전체의 세포들이 변성을 일으켰으며 48시간째에는 더욱 심한 변성이 일어났다. 특히 bentazone 투여 후 48시간째에는 핵농축현상이 뚜렷하였다. Best carmine 염색에서 glycogen 과립을 함유하는 간세포들도 3시간째에는 문맥주위의 세포들이, 12시간째에는 간소엽 전체의 간세포들이, 48시간째

에는 전체의 간세포들이 함유하는 glycogen 과립량이 현저히 증가하였다. 3-MC를 paraquat와 bentazone과 동시에 투여한 군에서 3시간째와 12시간째에는 단독투여군과 유사하였으나 48시간째에는 bentazone과 3-MC 동시투여군의 문맥주위의 간세포들이 재생되는 경향이었으며 paraquat와 3-MC를 동시에 투여한 군에서는 중심정맥 주위의 세포들만이 glycogen과립을 함유하고 있어 단독투여군과 뚜렷한 차이를 관찰할 수 있었다.

이 결론에서 3-MC는 paraquat와 bentazone에 의한 간세포의 독성을 경감시킬 수 있는 물질임을 알 수 있었다.

## 감사의 글

이 논문은 1999년도 한국학술진흥재단의 연구비에 의하여 연구된 결과의 일부이며 지원에 감사드립니다.(KRF-99-003-G00024 G3001).

## 참고 문헌

1. 임요섭, 박영민, 정영규, 한두석, 한성수 (2000) 몇 가지 제조제가 NIH 3T3 섬유모세포에 끼치는 세포독성, 한국독성학회지. 16(2), 173-178.
2. 권숙표 (1974) 농약과 공해, 대한의학협회지. 17(11), 45-51.
3. 정종학 (1978) 유기인제 농약으로 인한 피해, 대한의학협회지. 21(5), 359-364.
4. Onyon, L. J. and Volans, G. N. (1987) The epidemiology and prevention of paraquat poisoning, *Hum. Toxicol.* 6, 19-29.
5. Naito, H. and Yamashita (1987) Epidemiology of paraquat in Japan and a new safe formulation of paraquat, *Hum. Toxicol.* 6, 87-88.
6. Nagata, T., Kono, I., Masaoka, T. and Akafiori, F. (1992) Acute toxicological studies on paraquat: Pathological findings in beagle dogs following single subcutaneous injections, *Vet. Hum. Toxicol.* 3, 105-112.
7. Chen, N., Bowlen, M. R. and Pond, S. M. (1992) Competition between paraquat and putrescine for uptake by suspensions of rat alveolar type II cells, *Biochem. Pharmacol.* 44, 1029-1036.
8. Abernathy, J. R. and Wax, L. M. (1973) bentazone mobility and sorption in twelve Illinois soils, *Weed Sci.* 21, 224-227.
9. Gaston, L. A., Locke, M. A. and Zablutowicz (1996) Sorption and degradation of bentazone in conventional-and no-till Dundee soil. *J Environ Qual.* 25, 120-126.
10. Huber, R. and Otto, S. (1994) Environmental behavior of herbicide bentazone, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 137, 111-134.
11. Otto, S., Beutel, P., Drescher, N. and Huber, R. (1978) Investigations into the degradation of bentazone in plants and soil, *Adv. Pestic. Sci.* 3, 551-556.
12. Nebert, D. W., Atlas, S. A., Guenther, T. M. and Kouri, R. E. (1978) the ah locus: Genetic regulation of the enzymes which metabolize polycyclic hydrocarbons and the risk for cancer, In polycyclic hydrocarbons and cancer(P.O.P. Ts'o and H.B. Gelboin, eds.), Academic Press, New York, 2, 345-390.
13. Statham, C. N., Elcombe, C. R., Szyjka, S. P. and Lech, J. J. (1978) Effect of polycyclic hydrocarbons on hepatic microsomal enzymes and disposition of methyl-naphthalene in rainbow trout *in vitro*, *Xenobiotica.* 8, 65-71.
14. Boyland, E. and Chasseaud, L. F. (1970) The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis, *Advan. Enzymol.* 32, 172-192.
15. Wilkinson, C. F. (1976) In *Insecticide Biochemistry and Physiology*; Chapter 5. Acetylcholinesterases and Anticholinesterases. Plenum, New York, p.115-129.
16. Mosmann, T. (1983) Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods.* 65, 55-63.
17. 채영암, 구자욱, 서학수, 이영만 (1991) 기초생물통계학 제 9장 직선회귀, 향문사, 179-198.
18. Borenfreund, E. and Puerner, J. A. (1984) A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assay(HTD/Nr-90), *J. Tissue Culture Meth.* 9, 7-9.
19. Borenfreund, E., Babich, H. and Martin, A. N. (1998). Comparison of two *in vitro* cytotoxicity assay: The neutral red(NR) and terazolium MIT tests, *Toxic.* 2, 1-5.
20. 한두석, 임요섭, 한성수 (1997) Carbofuran이 NIH 3T3 섬유모세포와 흰쥐의 신장에 미치는 영향과 Phenobarbital sodium의 보상효과에 관한 연구, *Korean J. Toxicol.* 13(1), 87-94.
21. 한성수, 임요섭, 정재훈 (1996) 살충제 carbofuran과 phenobarbital sodium 및 3-Methylcholanthrene이 이스라엘 잉어의 효소활성에 미치는 영향, *한국농화학회지.* 39, 77-83.
22. 양광록, 심재한, 서용택 (1992) 농약 상호간의 협력작용에 의한 잉어의 독성과 해독효과 활성비교, *한국 농화학회지.* 35, 367-374.