

## BPA의 투여가 생쥐의 번식특성과 혈액성분에 미치는 영향

박동현 · 장현용 · 박춘근 · 정희태 · 김정익 · 양부근

강원대학교 동물자원과학대학

### Effect of Bisphenol A Administration on Reproductive Characteristic and Blood Metabolite in Mice

D. H. Park, H. Y. Jang, C. K. Park, H. T. Cheong, C. I. Kim and B. K. Yang

College of Animal Resource Science, Kangwon National University

#### ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effects of BPA on reproductive characteristic and blood hematological and chemical values in mice. The male mice were intraperitoneally injected BPA in native control(no treatment), positive control(corn oil, 3 ml/kg B.W), 0.05, 0.5 and 5.0 mg BPA/kg B.W and female mice were injected BPA in control(corn oil, 3 ml/kg B.W), 0.05, 0.5 and 5.0 mg BPA/kg B.W with 5 times at 3 days interval for 14 days. The administration of BPA in male mice didn't affect the body and reproductive organ weight such as testis, epididymis, vesicular gland and coagulating gland. We found that the 5.0 mg BPA group was significantly reduced the sperm concentration and increased the sperm abnormality compared to native, positive control and 0.05 mg BPA groups( $P < 0.05$ ), but any other effects were not found in sperm viability and motility in BPA treatment groups. The RBC, HB, HT, MCV, MCH, MCHC, albumin, BUN and total protein of blood hematological and chemical values in male were not different in all experimental groups( $P > 0.05$ ). However, the value of WBC was slightly lower in BPA treatment groups than that of control groups and PLT was slightly higher in BPA groups than that of control groups, but not significantly difference among the experimental groups( $P > 0.05$ ). In female mice, the effects of BPA on body weight didn't affect in all experimental groups, but ovary weights in 0.5 and 5.0 mg BPA groups were significantly increased compared to those in control and 0.05 mg BPA group( $P < 0.05$ ). The uterine weight in BPA groups was slightly higher than that of control group, but not significantly different in all experimental groups( $P > 0.05$ ). The RBC, Hb, HT, MCV, MCH, MCHC, albumin and total protein of blood hematological and chemical values in female were not different in all experimental groups( $P > 0.05$ ). The values of WBC and PLT in BPA groups were slightly higher than that of control, but not significantly different among the experimental groups. The concentration of BUN was the higher in BPA groups than that of control group. The histological evaluation of testis, ovary and uterus were not different in all experimental groups.

(Key words : BPA, Reproductive organ weight, Semen characteristics, Blood hematological and chemical values, Mouse)

#### I 서 론

Bisphenol A(BPA)는 polycarbonate plastics의 단량체로서 유아용 젖병, 급식용 식판, 음식용기 및 식품과 음료의 포장재로 널리 이용되고

있으며, epoxy 수지의 기본원료로서 음식통조림, 음료수 캔 및 병뚜껑 등의 내부코팅제를 포함한 많은 소비자 제품에 이용되며, 치과장비로도 이용되고 있다(Brotons 등, 1995; Magure, 1998; Papaconstantinou 등, 2000).

Corresponding author : B. K. Yang, College of Animal Resource Science, Kangwon National University, Tel : 033-250-8623, E-mail : bkyang@kangwon.ac.kr

BPA를 농축시켜 생산되는 polycarbonate는 탄산염결합을 형성하고 있는데, 비록 탄산염결합이 정상적인 탄력성이 있다 하더라도 높은 온도에서는 가수분해되어 BPA를 분비하게 되며, epoxy 수지에서는 불완전하게 중합된 수지로부터 BPA가 분해되어 용출된다(Charles 등, 1998; Lazear, 1995).

Brotons 등(1995)은 야채통조림의 액에서는 can당 10~20 $\mu$ g BPA가 검출되었고, 음식통조림에서 액상내용물에 용해되어 있는 BPA의 농도는 4~23 $\mu$ g이라고 보고하였으며, Olea 등(1996)은 치과에서 봉합제 치료를 받은 환자의 타액에서 ml당 20~30 $\mu$ g의 BPA가 검출되었다고 보고하였다.

BPA는 외인성 estrogen 물질로서 estrogen 수용체에 결합하여 estrogen과 같은 유사작용을 하는 것으로 보고되고 있으며, 생물체내에 유입될 경우에 정상적인 호르몬의 기능을 혼란시켜, 웅성의 경우는 체중의 증가, 정액생산의 감소, 정소와 정소상체 등 번식기관의 무게 감소, testosterone의 감소, 전립선의 무게 증가 및 기형발생 등이 보고되고 있지만(Cupta, 2000; Furukawa 등, 1994; Stoker 등, 1999; Takao 등, 1999), 이와는 상반된 결과도 보고되고 있다(Kwon 등, 2000; Nagao 등, 1999).

또한, 자성의 경우는 질각화(vaginal cornification)의 유도(Dodds와 Lawson, 1936; Steinmentz 등, 1998), 유선의 증식과 성장(Colerangle와 Roy, 1997), 혈청내 cholesterol 농도의 감소(Dodge 등, 1996), prolactin 농도의 증가(Steinmentz 등, 1997), 자궁의 혈관투과성의 증가(Milligan 등, 1998), 자궁과 질에서의 c-fos mRNA 수준의 증가(Steinmentz 등, 1998) 및 자궁 무게의 증가(Atinson와 Roy, 1995) 등이 일어난다고 보고되고 있지만, 웅성과 마찬가지로 상반된 결과도 보고되고 있으며(Cagen 등, 1999; Gould 등, 1998), 이들 대부분의 보고들은 인간이 실생활에서 노출될 수 있는 BPA의 노출범위보다 100~1,000배 정도 높은 농도에서 급성 및 만성독성을 이용한 실험으로서 저농도의 BPA 노출에 의한 효과는 거의 보고되지 않고 있다.

본 연구는 내분비계 장애물질 중 한국에서는 관찰물질로 분류되어 있는 BPA의 투여가 생쥐의 번식기능에 미치는 영향을 규명하기 위한 연구의 일환으로서, 자·웅성 생쥐에 저농도의 BPA의 투여가 번식기관무게, 정액성상, 조직검사 및 혈액성분 분석 등 번식특성과 생리기능에 미치는 영향을 검토하고자 실시하였다.

## II 재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물은 11~12주령된 ICR 생쥐를 이용하였으며, 사육조건은 온도 20~25 $^{\circ}$ C, 습도 60~70% 및 12시간의 명암주기로 사육하였고 사료는 제일사료의 마우스용 배합사료를 식수와 함께 자유급식 시켰다.

### 2. BPA의 제조 및 투여방법

BPA(Aldrich)의 제조는 100%의 ethanol에 녹인 다음 corn oil(Sigma)을 첨가하여 각각 1:9의 비율로 희석하여 제조하였다.

BPA의 투여는 웅성 생쥐는 체중 kg당 무처리구, corn oil, 0.05, 0.5 및 5.0 mg BPA 용량으로, 자성 생쥐는 체중 kg당 corn oil, 0.05, 0.5 및 5.0 mg BPA의 용량으로 3일 간격으로 5회 복강주사로 투여했으며 웅성은 투여 2일 후에 자성은 투여 7일 후에 검사하였다. Corn oil의 투여는 체중 kg당 3 ml를 복강주사로 투여하였다. 공시동물은 웅성은 각 처리구당 15마리씩 총 75마리, 자성은 각 처리구당 15마리씩 총 60마리를 완전임의배치법에 의해 배치하였다.

### 3. 정액 채취

정액의 채취는 경추탈골 후 우측 정소상체 미부를 적출하여 5%의 자우혈청(Fetal bovine serum, FBS, Gibco)이 첨가된 saline에 첨가하여 세절시킨 후 정액을 채취하여 일반성상검사를 실시하였다.

### 4. 정액의 일반성상검사

정액의 농도 및 생존율은 sperm quality ana-

lyzer(SQA-II B, Israel)를 이용하여 측정하였으며, 유효정자수의 측정은 Makler Counting Chamber (Sefi-Medical Instruments, Israel)에 의한 전진 운동성 비율로서 측정하였고, 정자의 기형을 검사는 Rose-Bengal 염색방법으로 실시하였다.

### 5. 번식기관무게 측정

웅성 생쥐의 번식기관무게 측정은 생쥐를 경추탈골 시킨 다음, 정소, 정소상체, 정낭선 및 응고선을 적출한 후 정소와 정소상체를 잘라내어 filter paper에서 지방조직을 제거하고 무게를 측정하였다. 자성생쥐의 번식기관무게 측정은 생쥐를 경추 탈골시킨 다음, 질, 자궁 및 난소를 적출한 후 filter paper에서 지방조직을 제거하고 무게를 측정하였다.

### 6. 혈액채취, 혈구 분석 및 혈청 분석

혈액의 채취는 안와정맥총으로부터 microcapillary tube(Chase)를 이용하여 채혈한 후 일부의 혈액은 혈구를 측정하고, 나머지 혈액은 4 °C에서 24시간 정치시킨 후 혈청을 분리하여 혈청 분석에 이용하였다.

혈액의 혈구성분 분석은 혈구자동분석기(Cobas Minos, Roch, France)를 이용하여 혈구화학치를 측정하였으며, 혈청 분석은 자동 혈청분석기(Expressplus, Ciba-corning, U.S.A)을 이용하여

albumin, blood urea nitrogen(BUN) 및 total protein을 측정하였다.

### 7. 번식기관의 조직검사

번식기관의 조직검사는 Hematoxylin-Eosin 염색방법으로 실시하였다. 적출한 좌,우측 정소, 난소 및 자궁을 Bouin용액(Sigma)에 24시간 동안 고정시킨 후 automatic tissue processor (Hypercenter, Shandon)를 이용하여 탈수, 투명, paraffin 침투과정을 거친 다음, 포매, 삭정, 박절, 염색 및 봉입하였다. 염색과정은 탈 paraffin과 함수과정을 거친 조직을 세척하고 3분간 hematoxylin 염색액으로 염색한 다음, 과 염색된 부분은 흐르는 수돗물로 세척하고 3분간 eosin으로 염색을 실시한 후 탈수와 투명과정을 거쳐 slide를 준비하였다.

### 8. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 SAS Package를 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 최소 유의차검정(Least Significant Difference test ; LSD test)을 실시하여 통계처리를 실시하였다.

## III 결 과

BPA의 투여가 웅성 생쥐의 번식기관무게에 미치는 결과를 Table 1에 요약하였다.

Table 1. Effects of bisphenol A administration on body weight and reproductive organ weight in male mice

Parameter (g)		Control 1 <sup>1)</sup>	Control 2 <sup>2)</sup>	BPA (mg/kg B.W)		
				0.05	0.5	5.0
Body weight	Initial	34.65 ± 3.72	34.54 ± 3.65	34.47 ± 4.65	34.42 ± 3.02	34.72 ± 3.38
	Final	35.77 ± 2.50	35.96 ± 3.08	33.43 ± 3.68	33.97 ± 3.00	35.79 ± 3.31
Testis	Right	0.115 ± 0.017	0.117 ± 0.010	0.116 ± 0.014	0.113 ± 0.017	0.110 ± 0.012
	Left	0.111 ± 0.014	0.110 ± 0.009	0.110 ± 0.013	0.105 ± 0.020	0.105 ± 0.013
Epididymis	Right	0.038 ± 0.006	0.037 ± 0.004	0.038 ± 0.005	0.038 ± 0.006	0.039 ± 0.005
	Left	0.037 ± 0.004	0.038 ± 0.004	0.037 ± 0.005	0.036 ± 0.005	0.037 ± 0.005
Vesicular gland	Right	0.061 ± 0.020	0.062 ± 0.021	0.066 ± 0.022	0.067 ± 0.021	0.076 ± 0.024
	Left	0.066 ± 0.018	0.066 ± 0.024	0.060 ± 0.021	0.067 ± 0.021	0.075 ± 0.023
Coagulating gland	Right	0.0049 ± 0.0007	0.0058 ± 0.0008	0.0059 ± 0.0014	0.0054 ± 0.0014	0.0060 ± 0.0014
	Left	0.0048 ± 0.0007	0.0052 ± 0.0009	0.0056 ± 0.0012	0.0054 ± 0.0015	0.0058 ± 0.0011

<sup>1)</sup> No treatment.

<sup>2)</sup> Corn oil(3 ml/kg Body weight).

웅성 생쥐에 BPA를 체중 kg당 무처리구, 대조구, 0.05, 0.5 및 5.0 mg BPA를 투여한 구에서 실험개시시의 체중과 실험종료시의 체중은 각 투여구간에 커다란 차이는 없었다.

번식기관 중 오른쪽 정소의 무게는 각각 0.115, 0.117, 0.116, 0.113 및 0.110 g이었으며, 왼쪽 정소의 무게는 각각 0.111, 0.110, 0.110, 0.105 및 0.105 g으로서 0.5 mg 및 5.0 mg 투여구가 다소 낮은 무게를 나타냈지만 커다란 차이는 없었다. 좌·우측 정소상체, 정낭선 및 응고선의 무게는 각 투여구간에 커다란 차이가

없었다.

BPA의 투여가 웅성 생쥐의 정액성상과 혈액성상에 미치는 영향을 Table 2와 3에 요약하였다.

웅성 생쥐에 BPA를 무처리구, 대조구, 0.05, 0.5 및 5.0 mg을 투여한 구에서 정자의 농도는 5.0 mg 투여구가  $29.28 \times 10^7$  정자/mL로서 여타구(무처리구, 35.50 ; 대조구, 35.73 및 0.05 mg 투여구,  $36.33 \times 10^7$  정자/mL)보다 통계적으로 유의하게 낮은 정자수를 나타냈다( $P < 0.05$ ).

정자의 생존율과 유효정자수는 각 투여구간에 커다란 차이가 없었으나( $P > 0.05$ ), 정자의

Table 2. Effects of bisphenol A administration on the semen characteristics in male mice

BPA (mg/kg B.W)	Sperm con.( $\times 10^7$ /mL)	Viability (%)	Motility (%)	Abnormality (%)
Control 1 <sup>1)</sup>	35.50 <sup>a</sup> $\pm$ 3.01	37.80 $\pm$ 3.51	35.50 $\pm$ 2.00	18.13 <sup>b</sup> $\pm$ 2.66
Control 2 <sup>2)</sup>	35.73 <sup>a</sup> $\pm$ 3.70	37.33 $\pm$ 1.31	35.85 $\pm$ 2.23	18.58 <sup>b</sup> $\pm$ 1.86
0.05	36.33 <sup>a</sup> $\pm$ 3.00	38.33 $\pm$ 1.75	36.48 $\pm$ 1.61	19.68 <sup>b</sup> $\pm$ 2.21
0.5	33.13 <sup>ab</sup> $\pm$ 4.13	36.15 $\pm$ 3.23	32.78 $\pm$ 4.71	21.65 <sup>ab</sup> $\pm$ 1.76
5.0	29.28 <sup>b</sup> $\pm$ 1.95	34.33 $\pm$ 3.13	32.30 $\pm$ 2.80	23.15 <sup>a</sup> $\pm$ 2.29

<sup>a,b</sup> Values with different superscripts within same column are significantly differ,  $P < 0.05$ .

<sup>1)</sup> No treatment.

<sup>2)</sup> Corn oil(3 mg/kg B.W).

Table 3. Effects of bisphenol A administration on blood hematological and chemical values in male mice

Parameter	Control 1 <sup>1)</sup>	Control 2 <sup>2)</sup>	BPA (mg/kg B.W)		
			0.05	0.5	5.0
WBC ( $10^3$ /mm <sup>3</sup> )	9.35 $\pm$ 1.49	8.92 $\pm$ 1.79	8.40 $\pm$ 1.75	8.06 $\pm$ 1.57	8.12 $\pm$ 1.87
RBC ( $10^6$ /mm <sup>3</sup> )	9.91 $\pm$ 0.48	9.22 $\pm$ 0.58	9.80 $\pm$ 0.51	10.13 $\pm$ 1.01	9.71 $\pm$ 0.71
HB (g/dl)	16.24 $\pm$ 1.47	15.68 $\pm$ 0.88	15.70 $\pm$ 0.77	16.23 $\pm$ 0.99	15.61 $\pm$ 0.90
HT (%)	45.69 $\pm$ 2.53	43.98 $\pm$ 2.34	45.83 $\pm$ 2.02	46.34 $\pm$ 3.05	45.70 $\pm$ 4.00
MCV ( $\mu$ m <sup>3</sup> )	46.59 $\pm$ 0.91	47.53 $\pm$ 1.87	47.29 $\pm$ 1.70	47.00 $\pm$ 1.10	47.00 $\pm$ 1.55
MCH (pg)	16.19 $\pm$ 0.92	16.37 $\pm$ 0.75	15.97 $\pm$ 0.43	16.53 $\pm$ 0.77	15.99 $\pm$ 0.37
MCHC (g/dl)	34.73 $\pm$ 1.47	34.83 $\pm$ 1.23	33.95 $\pm$ 0.93	35.24 $\pm$ 0.84	34.44 $\pm$ 1.17
PLT ( $10^3$ /mm <sup>3</sup> )	856.4 $\pm$ 82.56	877.8 $\pm$ 89.31	959.6 $\pm$ 73.08	969.4 $\pm$ 80.96	957.8 $\pm$ 103.2
Albumin (g/dl)	1.58 $\pm$ 0.09	1.45 $\pm$ 0.19	1.48 $\pm$ 0.26	1.40 $\pm$ 0.21	1.45 $\pm$ 0.12
BUN (mg/dl)	11.68 $\pm$ 2.17	10.85 $\pm$ 1.57	10.73 $\pm$ 2.00	11.35 $\pm$ 1.98	11.08 $\pm$ 1.30
TP (g/dl)	2.85 $\pm$ 0.63	2.80 $\pm$ 0.27	2.78 $\pm$ 0.57	2.68 $\pm$ 0.28	2.78 $\pm$ 0.38

<sup>1)</sup> No treatment.

<sup>2)</sup> Corn oil (3 mg/kg B.W).

WBC : White blood cell, RBC : Red blood cell, HB : Hemoglobin, HT : Hematocrit, MCV : Mean corpuscular volume, MCH : Mean corpuscular hemoglobin, MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT : Platelets, BUN : Blood Urea Nitrogen, TP : Total protein.

기형율은 5.0 mg 투여구가 여타구 보다 통계적으로 유의하게 높은 기형율을 나타냈다( $P < 0.05$ ).

BPA의 투여가 웅성 생쥐의 혈액성상에 미치는 영향을 조사한 결과, WBC는 BPA 투여구가 다소 낮은 백혈구 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았으며( $P > 0.05$ ), RBC, HB, HT, MCV, MCH, MCHC 및 PLT도 각 투여구간에 커다란 차이는 없었다( $P > 0.05$ ).

한편, 혈중 albumin 함량, BUN의 함량 및 total protein의 함량도 투여구간에 차이가 없었다.

Fig. 1은 BPA의 투여가 정소의 조직에 미치는 영향을 검토한 결과로서, 세정관의 정자형성세포의 크기, 모양 및 발육정도, Sertoli 세포의 변화, 간질세포의 수, 크기 및 실질과 간질의 비율 등은 조사한 결과, 0.5 mg 투여구와 5.0 mg 투여구에서 일부세포에서 종창과 정자형성세포의 탈락이 관찰되어 약한 정소 위축을 보였지만 여타구와 커다란 차이는 없었다.

BPA 투여가 자성생쥐의 번식기관무게와 혈액성상에 미치는 결과를 Table 4와 5에 요약하였다.

대조구, 0.05, 0.5 및 5.0 mg BPA 투여구에서 실험개시 체중과 실험종료시의 체중은 각 투여구간에 차이가 없었으며, 자궁의 무게는 BPA 투여구가 대조구보다 다소 높은 무게를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았다. 오른쪽 난소의 무게는 0.5 mg 투여구와 5.0 mg 투여구가 각각 0.0059 및 0.0061 g으로서 대조구(0.0081 g)와 0.05 mg 투여구(0.0071 g) 보다 통계적으로 유의하게 낮은 무게를 나타냈으며( $P < 0.05$ ), 왼쪽 난소의 무게는 각각 0.0076, 0.0076,

0.0058 및 0.0061 g으로 0.5 mg 투여구가 통계적으로 유의하게 낮은 무게를 나타냈다( $P < 0.05$ ).

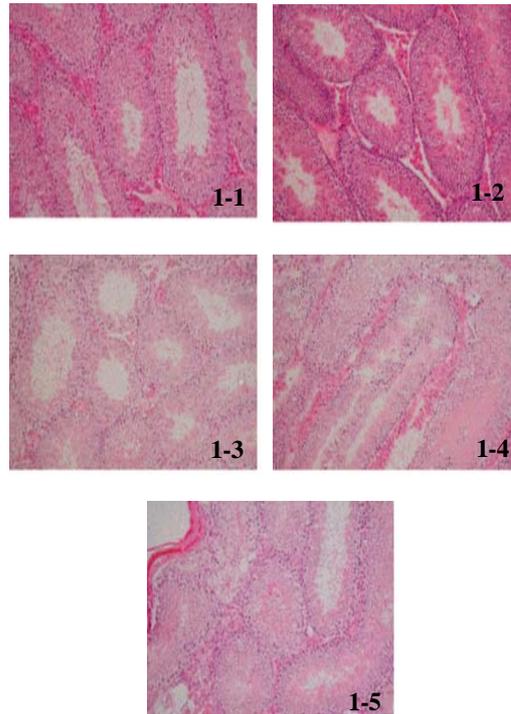


Fig. 1. Light micrograph of testis administered to the BPA in male mice. H&E stain( $\times 200$ )

- 1-1. Negative control as no administration of BPA.
- 1-2. Positive control as corn oil administration.
- 1-3. 0.05 mg/kg B.W BPA administration.
- 1-4. 0.5 mg/kg B.W BPA administration.
- 1-5. 5.0 mg/kg B.W BPA administration.

Table 4. Effects of bisphenol A on body and reproductive organ weight in female mice

Bisphenol A (mg/kg B.W)	Body weight (g)		Uterus (g)	Ovary (g)	
	Initial	Final		Right	Left
Control	28.32 ± 2.97	29.01 ± 2.83	0.0870 ± 0.023	0.0081 <sup>a</sup> ± 0.0023	0.0076 <sup>a</sup> ± 0.0019
0.05	28.32 ± 2.75	28.51 ± 2.71	0.1013 ± 0.022	0.0071 <sup>ab</sup> ± 0.0022	0.0076 <sup>a</sup> ± 0.0021
0.5	28.10 ± 2.48	28.43 ± 2.26	0.1054 ± 0.020	0.0059 <sup>b</sup> ± 0.0013	0.0058 <sup>b</sup> ± 0.0012
5.0	28.41 ± 2.78	29.26 ± 2.22	0.1067 ± 0.018	0.0061 <sup>b</sup> ± 0.0015	0.0061 <sup>ab</sup> ± 0.0014

<sup>ab</sup> Values with different superscripts within same column are significantly differ,  $P < 0.05$ .

Table 5. Effects of bisphenol A administration on blood hematological and chemical values in female mice

Parameter	Control	BPA (mg/kg B.W)		
		0.05	0.5	5.0
WBC ( $10^3/\text{mm}^3$ )	8.38 ± 1.11	9.31 ± 2.48	9.50 ± 1.85	9.03 ± 1.96
RBC ( $10^6/\text{mm}^3$ )	10.20 ± 0.78	9.77 ± 0.90	9.74 ± 0.74	9.71 ± 0.49
HB (g/dl)	17.03 ± 1.07	16.81 ± 1.31	16.55 ± 1.57	16.71 ± 1.63
HT (%)	47.17 ± 2.73	47.31 ± 3.55	46.91 ± 2.70	46.85 ± 2.80
MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	46.40 ± 1.61	47.65 ± 2.16	47.60 ± 1.36	48.04 ± 1.42
MCH (pg)	16.77 ± 0.62	16.87 ± 0.85	16.88 ± 1.01	17.29 ± 0.86
MCHC (g/dl)	36.10 ± 0.59	35.56 ± 0.93	35.79 ± 1.90	36.16 ± 1.29
PLT ( $10^3/\text{mm}^3$ )	905.7 ± 137.7	939.9 ± 183.0	971.7 ± 76.8	951.7 ± 167.3
Albumin (g/dl)	1.68 ± 0.13	1.56 ± 0.05	1.58 ± 0.13	1.66 ± 0.11
BUN (mg/dl)	16.48 <sup>a</sup> ± 1.29	11.76 <sup>b</sup> ± 1.50	11.20 <sup>b</sup> ± 1.90	11.74 <sup>b</sup> ± 0.93
TP (g/dl)	3.08 ± 0.10	3.06 ± 0.22	2.94 ± 0.35	3.02 ± 0.14

<sup>a,b</sup> Values with different superscripts within same rows are significantly differ,  $P < 0.05$ .

WBC : White blood cell, RBC : Red blood cell, HB : Hemoglobin, HT : Hematocrit, MCV : Mean corpuscular volume, MCH : Mean corpuscular hemoglobin, MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT : Platelets, BUN : Blood Urea Nitrogen, TP : Total protein.

자성 생쥐의 혈액성상에 대한 결과에서 WBC는 각각 8.38, 9.31, 9.50 및  $9.03 \times 10^3/\text{mm}^3$ 로서 BPA 투여구가 대조구에 비해 다소 높은 수치를 나타냈지만 커다란 차이는 없었으며( $P > 0.05$ ), 혈중 BUN의 함량은 BPA 투여구(0.05 mg 투여구, 11.76; 0.5 mg 투여구, 11.20 및 5.0 mg 투여구, 11.74 mg/dl)가 대조구의 16.48 mg/dl 보다 통계적으로 유의하게 낮은 함량을 나타냈다( $P < 0.05$ ). 한편, RBC, HB, HT, MCV, MCH, MCHC, PLT, albumin 및 total protein의 함량은 각 투여구간에 커다란 차이가 없었다.

BPA의 투여가 자성 생쥐의 난소와 자궁의 조직에 미치는 결과는 Fig. 2과 3에서 나타난 바와 같다. 난소에서는 과립막과 난포외막 등의 난포 발육상태와 황체 등을 조사한 결과, Fig. 2에 나타난 바와 같이 각 투여구간에 차이는 없었다. 자궁은 자궁내막의 변화, 자궁근층의 두께와 세포크기 및 염증상태를 조사한 결과, Fig. 3에 나타난 바와 같이, 각 투여구간에 차이는 인정되지 않았다.

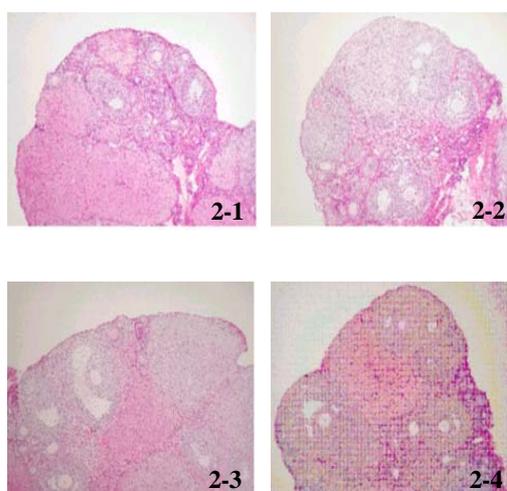


Fig. 2. Light micrograph of ovary administered to the BPA in female mice. H&E stain( $\times 100$ ).

2-1. Control as corn oil administration.

2-2. 0.05 mg/kg B.W BPA administration.

2-3. 0.5 mg/kg B.W BPA administration.

2-4. 5.0 mg/kg B.W BPA administration.

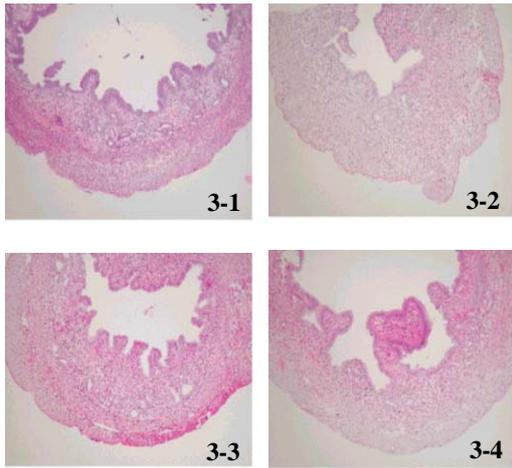


Fig. 3. Light micrograph of uterine administered to the BPA in female mice. H&E stain( $\times 100$ ).

- 3-1. Control as corn oil administration.
- 3-2. 0.05 mg/kg B.W BPA administration.
- 3-3. 0.5 mg/kg B.W BPA administration.
- 3-4. 5.0 mg/kg B.W BPA administration.

#### IV 고 찰

BPA는 외인성 estrogen 물질로서 체내에 유입되면 정상적인 호르몬의 대사작용에 영향을 미쳐 생식기관과 번식기능에 유해한 영향을 미치는 것으로 보고되고 있지만, 동물사육실의 조건, 급여된 사료의 성분, 실험동물의 사육조건, 교배방법, 투여경로 및 종간의 차이점 때문에 보고자들마다 상반된 결과를 보고하고 있다.

본 실험에서 BPA의 투여가 음성 생쥐의 번식기관 무게에 미치는 효과를 실험한 결과, 생쥐의 체중, 정소상체, 정낭선 및 응고선의 무게는 투여구간에 차이가 없었으며, 정소의 무게는 5.0 mg 투여구가 다소 적은 무게를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었다. 이러한 결과는 음성 C57BL/6 생쥐에 0.5 및 50  $\mu\text{g}$  BPA/ml를 4주 또는 8주 동안 식수로 공급한 결과, 체중과 정소의 무게는 변화가 없었다고 보고한 Takao 등(1999)과 rat에 생후 1~5일까지 체중 g당 300 $\mu\text{g}$  BPA를 피하주사로 투여한 결과, 번식기관의 무게에는 변화가 없었다고 보고한

Nagao 등(1999)의 결과와 일치하는 경향을 보였지만, 음성 B6C3F1 생쥐에 4.0% BPA를 사료에 혼합해서 3주 동안 공급한 결과, 체중의 감소가 있었다고 보고한 Furukawa 등(1994)의 결과와는 상반된 결과를 보였다.

BPA를 투여한 후 음성 생쥐의 정액성상에 미치는 영향을 조사한 결과, 생존율과 유효정자수는 각 투여구간에 커다란 차이가 없었으나, 정자의 농도는 5.0 mg 투여구가 여타구보다 통계적으로 유의하게 낮은 정자수를 나타냈으며( $P < 0.05$ ), 기형율은 5.0 mg 투여구가 무처리구, 대조구 및 0.05 mg 투여구보다 통계적으로 유의하게 높은 기형율을 나타냈다.

설치류에서 외인성 estrogen이 자궁에 미치는 효과는 내장과 선상피의 이상발달(Branham 등, 1993; Cooke 등, 1997)을 가져오며, 자궁근층(Hunter 등, 1999; Yokoyama 등, 1998)과 간질(Cooke 등, 1997)의 세포증식을 자극하여 자궁 무게를 증가시키고, 자궁액의 흡수(Astwood, 1938)와 분비선 단백질 생산(Buchanan 등, 1999)을 일으키는데 외인성 estrogen을 이러한 효과는 ER $\alpha$ 를 통해 중개되어 진다고 보고되었다(Buchanan 등, 1999; Cooke 등, 1997; Orimo 등, 1999).

본 실험의 경우, 자성생쥐에 BPA를 투여한 후 체중, 자궁 및 난소의 무게에 미치는 영향을 조사한 결과, 실험개시시 체중과 실험종료시 체중은 투여구간에 커다란 차이가 없었으며, 자궁의 무게는 BPA 투여구가 대조구에 비해 다소 높은 무게를 나타냈지만 통계적 유의성은 인정되지 않았다. 오른쪽 난소의 무게는 0.5 mg 투여구와 5.0 mg 투여구가 대조구와 0.05 mg 투여구보다 통계적으로 유의하게 높은 무게를 나타냈으며( $P < 0.05$ ), 왼쪽 난소의 무게는 0.5 mg 투여구가 대조구와 0.05 mg 투여구보다 통계적으로 유의하게 낮은 무게를 나타냈다( $P < 0.05$ ). 이와 같은 결과는 CFLP 생쥐에 체중 kg당 0.05~0.5 mg BPA를 피하주사로 투여시 자궁의 무게에는 효과가 없었다고 보고한 Coldham 등(1997)과 미성숙된 SD rat에 체중 kg당 150mg BPA를 경구투여시 자궁의 무게는 효과가 없었다고 보고한 Gould 등(1998)의 결

과와 일치하는 경향을 보였다. 반면, Dodge 등 (1996)은 난소 적출을 실시한 SD rat에 체중 kg 당 30 mg BPA를 경구로 투여시, 자궁의 무게가 대조구에 비해 37%가 증가하였다고 보고하였으며, Papaconstantinou 등(2000)은 난소 적출을 실시한 B6C3F1 생쥐에 체중 kg당 0.02~8.0 mg BPA의 농도로 4일간 피하주사시, 0.8mg BPA 농도 이상에서 자궁의 무게와 자궁내강 상피세포의 높이를 증가시켰다고 보고하여 본 실험의 결과와는 상이한 결과를 나타냈다. Gould 등(1998)과 Papaconstantinou 등(2000)과의 결과와 본 실험의 결과가 상반된 결과는 실험동물, 난소 적출여부 및 투여량의 차이에 기인되는 것으로 사료된다.

자·웅성 생쥐에 BPA의 투여가 혈구의 일반 성분에 미치는 영향을 조사한 결과에서는 RBC, HB, HT, MCV, MCH 및 MCHC는 각 투여구 간에 차이가 없었으며, WBC는 자성에서는 BPA 투여구가 대조구보다 다소 높은 수치를 나타낸 반면, 웅성에서는 BPA 투여구가 무처리구 및 대조구보다 다소 낮은 수치를 나타냈다. PLT는 자·웅성 모두에서 BPA 투여구가 무처리구 및 대조구보다 높은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았다.

자·웅성 생쥐에 BPA의 투여가 혈청의 일반 성분에 미치는 영향을 조사한 결과에서는 혈중 albumin 함량과 total protein 함량은 각 투여구 간에 차이가 없었으며, 혈중 BUN 함량은 웅성에서는 각 투여구간에 차이가 없었던 반면, 자성에서는 BPA 투여구가 대조구보다 통계적으로 유의하게 낮은 함량을 나타냈다. Furukawa 등(1994)은 자·웅성 B6C3F1 생쥐에 0.2~4.0% BPA를 사료에 혼합해서 3주 동안 공급한 결과, 1.0% 이상의 급여구에서 RBC, Hb 및 HT가 증가했으며, 4.0% 급여구에서는 혈소판의 숫자가 증가하였다고 보고하여 본 실험의 결과와는 다소 다른 경향을 나타냈다.

본 실험에서 정소, 난소 및 자궁의 조직검사에서 BPA의 투여는 모든 투여구간에 커다란 차이가 없었는데, 이러한 결과는 신생아 rat에 생후 1~5일 동안 체중 g당 300 $\mu$ g BPA를 피하주사로 투여한 결과, 번식기관의 조직, 병리

학적인 기형은 없었다고 보고한 Nagao 등 (1999)과 생후 21일된 미성숙 자성 CD-1 생쥐에 체중 kg당 10~100 mg BPA를 3일 동안 피하주사로 투여한 결과, 자궁에서는 변화가 없었다고 보고한 Mehmood 등(2000)의 결과와 일치하는 경향을 보였다. 그러나 Takao 등(1999)은 웅성 C57BL/6 생쥐에 50 $\mu$ g BPA/ml을 식수로 8주 동안 공급했을 때 정소의 세정관내에서 3개의 핵보다 더 많은 핵을 가지고 있는 거대세포가 발견되었다고 보고하였으며, Papaconstantinou 등(2000)은 난소 적출을 실시한 B6C3F1 생쥐에 체중 kg당 0.02~8.0 mg BPA의 농도로 4일간 피하주사로 투여한 결과, 0.8~8.0 mg BPA의 농도에서 자궁내강상피의 높이와 간질의 두께 및 자궁근층의 두께가 증가하였다고 보고하여, 본 실험의 결과와는 상반된 결과를 보였다.

본 실험의 결과로 볼 때 저 농도의 BPA의 투여에 대한 작용기작을 명확하게 규명할 수는 없지만 ICR 생쥐의 번식효율과 생리기능에 커다란 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

## V 요 약

본 연구는 내분비 장애물질 중 관찰물질로 지정된 BPA의 투여가 생쥐의 번식특성과 생리기능에 미치는 영향을 검토한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

웅성 생쥐에 BPA를 체중 kg당 무처리구, 대조구, 0.05, 0.5 및 5.0 mg BPA를 투여한 구에서 실험개시시와 실험종료시의 체중, 정소상체, 정낭선 및 응고선의 무게는 투여구간에 커다란 차이가 없었으며, 정소의 무게는 5.0 mg 투여구가 다소 낮은 무게를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었다. BPA의 투여가 웅성 생쥐의 정액 성상에 미치는 영향을 조사한 결과, 생존율과 유효정자수는 각 투여구간에 커다란 차이가 없었으나 정자농도는 5.0 mg 투여구가 여타구보다 통계적으로 유의하게 낮은 정자농도를 나타냈다( $P < 0.05$ ). 기형율은 5.0 mg 투여구가 무처리구, 대조구 및 0.05 mg 투여구보다 통계적으로 유의하게 높은 기형율을 나타냈다( $P < 0.05$ ). 웅성의 혈액성상에 미치는 영향에서 RBC, HB,

HT, MCV, MCH, MCHC, albumin, BUN 및 total protein은 각 투여구간에 차이가 없었으며, WBC는 BPA 투여구가 무처리구 및 대조구보다 다소 낮은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았으며, PLT는 BPA 투여구가 무처리구 및 대조구보다 높은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았다.

BPA의 투여가 자성 생쥐의 번식기관 무게에 미치는 영향은 실험개시시 체중, 실험종료시 체중 및 자궁의 무게는 투여구간에 커다란 차이가 없었지만, 오른쪽 난소의 무게는 0.5 mg 투여구와 5.0 mg 투여구가 대조구 및 0.05 mg 투여구보다 낮은 무게를 나타냈으며( $P < 0.05$ ), 왼쪽 난소의 무게는 0.5 mg 투여구가 대조구 및 0.05 mg 투여구보다 통계적으로 유의하게 낮은 무게를 나타냈다( $P < 0.05$ ). 자성 생쥐의 혈액성상에 미치는 영향은 RBC, HB, HT, MCV, MCH, MCHC, albumin 및 total protein은 각 투여구간에 차이가 없었으며, WBC는 BPA 투여구가 대조구보다 다소 높은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았으며, PLT는 0.5 mg 투여구와 5.0 mg 투여구가 대조구보다 높은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았다. 혈중 BUN의 함량은 BPA 투여구가 대조구 보다 통계적으로 유의하게 낮은 함량을 나타냈다( $P < 0.05$ ).

정소, 난소 및 자궁의 조직검사에서는 모든 투여구간에 커다란 차이는 인정되지 않았다.

## VI 인용 문헌

- Astwood, E. B. 1938. A six-hour assay for the quantitative determination of estrogen. *Endocrinology*, 23:25-31.
- Atinson, A. and Roy, D. 1995. *In vitro* DNA adduct formation by bisphenol A. *Environ. Mol. Mutagen.* 26:60-66.
- Branham, W. S., Zehr, D. R. and Sheehan, D. M. 1993. Differential sensitivity of rat uterine growth and epithelium hypertrophy to estrogens and antiestrogens. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 230:297-303.
- Brotons, J. A., Olea-serrano, M. F., Villalobos, M., Pedraza, V. and Olea, N. 1995. Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environ. Health. Perspect.* 103:608-612.
- Buchanan, D. L., Setiawan, T., Lubahn, D. B., Taylor, J. A., Kurita, T., Cunha, G. R. and Cooke, P. S. 1999. Tissue compartment-specific estrogen receptor- $\alpha$  participation in the mouse uterine epithelial secretory response. *Endocrinology*, 140:484-491.
- Cagen, S. Z., Waechoter, J. M., Dimond, S. S., Breslin, W. J., Butala, J. H., Jekat, F. W., Joiner, R. L., Shiotsuka, R. N., Veenstra, G. E. and Harris, L. R. 1999. Normal reproductive organ development in Wistar rats exposed to bisphenol A in the drinking water. *Regula. Toxicol. Pharmacol.* 30:130-139.
- Charles, A. S., Philip, B. D., Gary, M. K., Sondra, T. and Lynne, R. H. 1998. A review of the environmental fate, effects and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36:2149-2173.
- Coldham, N. G., Dave, M., Sivapathasundrama, S., McDonnell, D. P., Connor, C. and Suer, M. J. 1997. Evaluation of a recombinant yeast cell estrogen screening assay. *Environ. Health, Perspect.* 105:734-742.
- Colerangle, J. B. and Roy, D. 1997. Profound effects of the weak environmental estrogen-like chemical bisphenol A on the growth of the mammary gland of Noble rat. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 60(1-2):153-160.
- Cooke, P. S., Buchanan, D. L., Young, P., Setiawan, T., Brody, J., Korach, K. S., Taylor, J., Lubahn, D. B. and Cunha, G. R. 1997. Stromal estrogen receptors mediate mitogenic effects of estradiol on uterine epithelium. *Proc. Natl. Sci. U.S.A.* 94:6535-6540.
- Cupta, C. 2000. Reproductive malformation of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 224(2):61-68.
- Dodds, E. C. and Lawson, W. 1936. Synthetic oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*, 137:996.
- Dodge, J. A., Glasebrook, A. L., Magee, D. E., Phillips, D. L., Sato, M., Short, L. L. and Bryant, H. U. 1996. Environmental estrogen : effects on cholesterol lowering and bone in the ovariectomized rat. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 59(2):155-161.
- Furukawa, F., Nishikawa, A., Mitsui, M., Sato, M., Suzuki, J., Imazawa, T. and Takahashi, M. 1994. A 13-week subchronic toxicity study of bisphenol A in B6C3F1 mice. *Eisei. Shikenjo. Hokoku.* 112: 89-96.

15. Gould, J. C., Leonard, L. S., Maness, S. C., Wagner, B. L., Conner, K., Zacharewski, T., Safe, S., McDonnell, D. P. and Gaido, K. W. 1998. Bisphenol A interact with the estrogen receptor alpha in a distinct manner from estradiol. *Mol. Cell. Endocrinol.* 25(142):203-214.
  16. Kwon, S., Stedman, D. B., Elswick, B. A., Cattley, R. C. and Welsch, F. 2000. Pubertal development and reproductive functions of Cr1:CD BR Sprague-Dawley rats exposed to bisphenol A during prenatal and postnatal development. *Toxicol. Sci.* 55:399-406.
  17. Lazear, N. R. 1995. Polycarbonate : high-performance resin. *Advmaterial and processes.* 147: 43-45.
  18. Magure, H. C. 1998. Experimental photoallergic contact dermatitis to bisphenol A. *Acta. Derm. Venereol.* 68:408-412.
  19. Milligan, S. R., Balasubramanian, A. V. and Kalita, J. C. 1998. Relative potency of xenobiotic estrogen in an acute *in vivo* mammalian assay. *Environ. Health, Perspect.* 106:23-26.
  20. Nagao, T., Saito, Y., Usumi, K., Kuwagata, M. and Imai, K. 1999. Reproductive function in rats exposed neonatally to bisphenol A and estradiol benzonate. *Reprod. Toxicol.* 13(4):303-311.
  21. Olea, N. R., Pulgar, P., Perez, F., Olea serrano, A., Rivas, A., Novillo-Fertterll, V., Pedraza, A. M., Sotox, A. M. and Sonnenschein, C. 1996. Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environ. Health. Perspect.* 104: 298-305.
  22. Orimo, A., Inoue, S., Minowa, O., Tominaga, N., Tomioka, Y., Sato, M., Kuno, J., Hiroi, H., Shimizu, Y., Suzuki, M., Noda, T. and Muramatsu, M. 1999. Underdeveloped uterus and reduced estrogen responsiveness in mice with disruption of the estrogen-responsive finger protein gene, which is a direct target of estrogen receptor  $\alpha$ . *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96:12027-12032.
  23. Papaconstantinou, A. D., Umbreit, T. H., Fisher, B. R., Goering, P. L., Lappas, N. T. and Brown, K. M. 2000. Bisphenol A-induced increase in uterine weight and alterations in uterine morphology in ovariectomized B6C3F1 mice : role of the estrogen receptor. *Toxicol. Sciences,* 56:332-339.
  24. Steinmetz, R., Brown, N. G., Allen, D. L., Bigsby, R. M. and Ben-Jonathan, N. 1997. The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release *in vitro* and *in vivo*. *Endocrinology,* 138:1780-1786.
  25. Steinmetz, R., Mitchner, N. A., Grant, A., Allen, D. L., Bigsby, R. M. and Ben-Jonathan, N. 1998. The xenoestrogen bisphenol A induces growth, differentiation and c-fos gene expression in the female reproductive tract. *Endocrinology,* 139:2741-2747.
  26. Stoker, T. E., Robinette, C. L., Britt, B. H., Law, S. C. and Cooper, R. L. 1999. Prepubertal exposure to compounds that increase prolactin secretion in the male rat : effect on the adult prostate. *Biol. Reprod.* 61:1636-1643.
  27. Takao, T., Nanamiya, W., Nagano, I., Asaba, K., Kawabata, K. and Hashimoto, K. 1999. Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. *Life, Sciences,* 65(22):2351-2357.
- (접수일자 : 2004. 11. 2. / 채택일자 : 2004. 12. 8.)