

화학적 간발암모델에서 Bisphenol A가 간암의 전암성 및 종양성 병변에 미치는 영향

박기대 · 한범석 · 임국환*†

식품의약품안전청 국립독성연구원, *고려대학교 보건과학대학

Modifying Effect of Bisphenol A on the Preneoplastic and Neoplastic Lesions of Rat Liver Treated with Diethylnitrosamine Infusion

Ki Dae Park · Beom Seok Han · Kook Hwan Rhim*†

National Institute of Toxicological Research, Korea Food & Drug Administration

*College of Health Sciences, Korea University

(Received November 5, 2005/Accepted December 10, 2005)

ABSTRACT

Bisphenol A(BPA) was known as an endocrine disrupting chemical. This study was conducted to assess the effect of BPA, weaker estrogen, on the preneoplastic and neoplastic lesions induced by diethylnitrosamine (DEN). One hundred male F344 rats were divided into four groups which were treated with DEN followed by BPA. To make liver tumor early, we conducted that DEN containing osmotic pump implanted into rat abdominal cavity. Then diet containing BPA were fed to the rats. All animals were sacrificed at 10 and 18 weeks. Body weights were significantly decreased in 4000ppm at 18 weeks. Relative Liver weights of 4000 ppm BPA treated group were significantly increased compared to that of DEN alone group at 18 weeks. There were no significant differences of liver tumor incidences. Sum area of GST-P positive foci and BrdU labeling indices of BPA treated group were not significantly different compared to those of control group. These results suggest that BPA have no effects in preneoplastic and neoplastic lesions on DEN-induced hepatocarcinogenesis.

Keywords: Bisphenol A, DEN, preneoplastic lesion, hepatocarcinogenesis

I. 서 론

내분비계 장애물질은 외부환경으로부터 음식물이나
음수 또는 대기 중에 포함되어 있으며 생물의 체내로
들어와 체내에서 내분비계통의 작용을 간섭 또는 방해
한다. 작용경로는 주로 수용체와 관련된 효소나 호르몬
작용의 억제를 유발하게 되며, 동물의 초기 성장기 동
안 내분비계 평형에 큰 영향을 미치게 된다. 이러한 내
분비계장애물질의 오염은 특히 다양한 화학공업제품에
의해 일어나며 야생동물의 생식 및 발달장애를 유발할
수 있는 것으로 알려져 있다.¹⁾

이러한 내분비계 장애물질 중에서도 bisphenol A
(4,4'-isopropylidene-2-diphenol, BPA)는 polycarbonate
플라스틱, 에폭시수지 등의 합성에 사용되는 단량체로
써, 음수, 캔제품, 우유병 등의 음식물 포장재 등에서
발견된다. BPA는 미약한 에스트로겐 성질을 가지고 있
으며, 에스트로겐 수용체에 작용하는 것으로 보고되고
있으나,¹⁾ *in vitro* 실험에서, BPA가 미약한 에스트로겐
양 작용을 나타내는 것이 아니라 에스트로겐 수용체
(ER α)에 대해 전혀 다른 별개의 기전을 가지고 있다는
보고도 존재하고 있다²⁾. BPA는 ER α 에 대하여 에스트
로겐과 경쟁적으로 결합하며, progesterone 수용체의 발
현을 유도하는 것으로 알려져 있으며, MCF-7 human
breast cancer 의 증식을 유도한다.³⁾

Estrogen은 생체내 다양한 장기의 세포증식에 관여하
고 있으며, 간암의 promoter로써 작용하고, 단독으로도

†Corresponding author : College of Health Sciences, Korea
University

Tel: 82-2-940-2872, Fax: 82-2-909-0064

E-mail : khim@korhealth.ac.kr

간암을 일으키는 경우도 보고되어져 있어 유사 에스트로겐인 내분비계장애물질도 간암에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

간암은 역학적으로 남성이 여성보다 훨씬 빈번하게 발생하며,^{4,6)} 간 원발성 종양에서는 적어도 약 2~3배 정도의 성별에 따른 발암 빈도의 차이를 나타낸다.⁷⁾ 또한 실험동물에서, 자연발생되는 설치류의 간유래 종양 발생과, 실험적으로 간종양을 유발하였을 경우에도 역시 수컷이 암컷보다 높은 빈도로 발생한다고 보고되어져 있어^{8,9)} 간암 발생은 역학적으로 성별에 의한 차이가 인정되고 있으며, 이러한 차이에는 어느 경로를 경유하여 나타나는 지는 명확하게 밝혀져 있지 않으나 성호르몬이 간암의 발생과 깊은 상관관계를 가지고 있는 것으로 생각되어지고 있다.

Estrogen 작용을 가지는 BPA의 독성시험이 이루어진 분야는 생식독성이며, BPA의 투여에 의한 암수 생식기에 대한 독성보고가 대부분이다. 최근에는 내분비계장애물질의 저농도 작용 독성이 알려지면서 임신, 태자 및 태아에 대한 연구도 진행되고 있다.

그러나 중요한 사망원인 중의 하나인 간암발생에 대한 BPA의 영향에 대한 보고는 거의 찾아볼 수 없다. 따라서 본 실험에서는 DEN을 이용하여 화학적으로 유발시킨 F344의 간발암 전암단계 및 종양발생단계에서 BPA 작용과 그 기전을 알아보려 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험실 사육조건

3주령 F344 수컷 랫드(Charles River Laboratory Inc. Co., USA) 100수를 구입하여, 4주령에 군분리를 실시하였다. 실험동물은 임의로 4개 군으로 나누어 플라스틱 케이지에 2~3마리씩 나누어 사육하였고, 실험기 간동안 사육환경은 23±2°C, 상대습도 55±10%를 유지하였다. 인공조명(12시간 점등, 12시간 소등) 하에서 사육하였으며, 기초사료(Labdiet, Charles River Japan Inc. Co., Tokyo, Japan)와 정제수는 자유 급식시켰다.

2. BPA 투여

간암발생에 대한 내분비계 장애물질의 작용을 관찰하기 위한 시험물질로 BPA(Fig. 1) (Aldrich, Cat No. 23965-8)를 사용하였다. BPA의 용량은 400, 1000 및 4000 ppm으로 설정하였으며, 각 농도별 BPA 혼합사료를 제작하기 위해 BPA를 분말사료(LabDiet, 5002, USA)에 혼합하여 제작하였다. 제작한 혼합사료 내에 존재하는 BPA의 농도는 (주)랩프론티어에 의뢰하여 검증

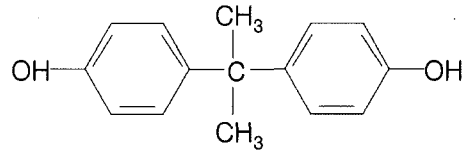


Fig. 1. Chemical structure of bisphenol A.

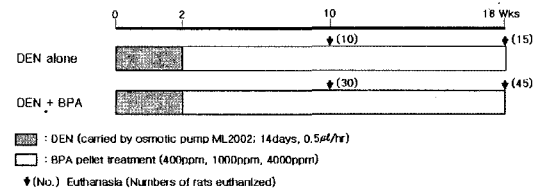


Fig. 2. Experimental design.

하였으며, 혼합사료는 동물에게 투여되기 전 (주) Greenpia Technology Inc.에서 gamma 조사 멸균하여 사용하였다. 사료소모량은 매주 측정하였다.

3. 화학적 간발암 모델(Fig. 2)

간암발생을 유발시키기 위해 diethylnitrosomine (DEN; N0756, Sigma, USA)을 처치하였다. DEN을 dimethylsulphoxide(DMSO)에 용해하여 mini-osmotic pump (Alzet, ML2002; 14 day, 0.5 µl/hour, reservoir volume 200 µl; ALZA Scientific Product, Palo Alto, CA)에 47.5 mg/pump 용량으로 충전한 후, 모든 군의 실험동물 복강에 외과적으로 삽입하였다. Osmotic pump는 2주간 삼투압에 의해 지속적으로 충전된 발암 물질을 체내로 방출시켜, 이전의 발암모델에서처럼 다른 promoter나 initiator를 필요로 하지 않고, 효과적으로 간발암을 일으킨다.¹⁰⁾

4. 체중 및 장기 무게 검사

DEN 투여 후 10주, 18주때 각 군에서 일정 수의 랫드를 안락사하여 부검하였다. 안락사 1시간 전 5-bromodeoxyuridine(BrdU; Sigma B9285)를 100 mg/kg/10 ml 용량으로 단회 복강주사하였다.

부검시 최종 체중을 측정하고 간장, 고환, 전립샘, 정낭 및 응고선, 부신, 뇌하수체를 적출하여 장기무게를 측정하고 10% 중성 포르말린에 고정시킨 후 ethyl alcohol에 단계적으로 탈수 및 투명화 처리를 거쳐 파라핀에 포매한 뒤 3~4 µm의 연속 절편을 제작하였다.

5. 간암병변의 발생 조사

각 시기별 부검에서 간장을 적출하여 일반조직학적 방법을 통한 조직절편 제작 및 H-E 염색을 통한 조직

병리학적 진단을 실시하였으며, 간장에서 출현하는 종양의 발생율을 비교·분석하였다.

6. 면역조직화학적 검사

간전암단계의 BPA에 의한 세포증식 정도를 관찰하기 위한 BrdU 및 간전암지표로 사용되는 Glutathione S Transferase Placental Form (GST-P)에 대한 면역조직화학적 검사를 실시하였다. 간장조직 절편을 합수시킨 후 3% 과산화수소로 내부에 존재하는 peroxidase 활성을 제거하고 조직절편을 0.01 M citrate buffer (pH 6.0)안에 넣고 microwave 안에서 10분간 끓여 항원을 노출시켰다. 절편을 식힌 후 blocking serum으로 1시간 반응시켰으며, BrdU(sc-7207, Santa Cruz Biotechnology, USA) 및 GST-P(311-H, Medical & Biological Laboratories Co. LTD., Japan)를 0.1% bovine serum albumin에 1:400으로 희석하여 일차항체로 사용하였고, 이차항체와 발색에는 ABC Staining System(sc-2018, Santa Cruz Biotechnology, USA)을 사용하였다. BrdU 양성세포의 측정방법은 현미경하에서 간장의 1000개의 정상간세포 당 양성세포의 비율을 백분율로 산정하여 측정하였다. 측정은 화상분석기(VideoTest-4.0, IMTechnology. Co., USA)를 이용하여 측정하였다. GST-P 양성 증식소의 면적도 단위면적당(cm^2) 양성증식소의 면적(mm^2)을 BrdU와 동일한 화상분석기를 이용하여 측정하였다.

7. 유의성 검사

본 실험에서 측정치에 대한 통계학적 분석은 통계처리프로그램인 SAS(Statistical Analysis System)를 기본으로 하는 JMP-4(Version: 4.0.2, SAS Institute Inc, USA)를 이용하여, 간암병변의 발생빈도에 대해서 Chi-Square test를 이용하여 검정하였다. 체중 및 장기중량 측정치에 대한 통계학적 분석은 Dunnett's test 및 student's t-test를 실시하였다. 유의성은 P value가 0.05 이하일 때 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

III. 결 과

1. BPA 혼합사료 중 BPA 농도분석

실험기간 중 BPA 처리는 시험물질을 혼합하여 제작한 사료를 자유식이 시켰다. 제작한 BPA 혼합사료는 (주)랩프런티어에 의뢰하여 사료내 BPA 혼합농도를 검증하였다. 각 농도별 사료를 혼합하여 제작한 펠렛을 분석한 결과, BPA400 ppm, BPA1000 ppm BPA4000 ppm의 사료내 BPA 함유농도는 실제 443.99 ppm,

Table 1. BPA concentration in mixed pellet

Pellet sample	BPA concentration (mg/l)
BPA 400 ppm	443.99501
BPA 1000 ppm	1140.81127
BPA 4000 ppm	4050.95717

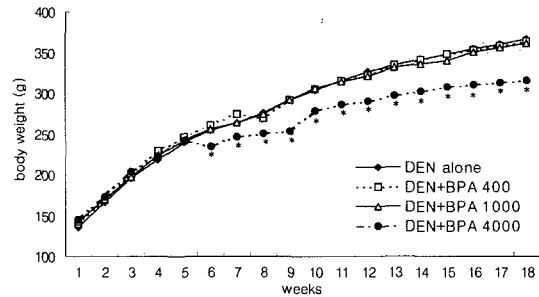


Fig. 3. Body changes of rat during experimental periods.

1140.81 ppm 그리고 4050.96 ppm으로 실제 설정 농도의 약 10%의 차이를 나타내었다(Table 1).

2. 체중 및 장기무게

실험기간 동안, 5주까지는 체중의 차이가 관찰되지 않았으나 6주경부터 BPA 고농도투여군에서 체중감소가 유의성있게 관찰되었다(Fig. 3). 그러나 사료소모량은 개체당 변이가 심하여 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았다.

실험 10주와 18주의 부검에서 랫드 체중 및 상대장기 무게는 Table 2에 나타내었다. 10주 부검시 체중의 변화는 관찰되지 않았으며, 다른 장기의 상대장기 무게도 유의적인 변화는 찾아볼 수 없었다. 18주 부검에서 BPA 4000 ppm 투여군의 체중은 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었고, 간장 및 고환의 상대장기 무게는 대조군에 대한 유의성 있는 증가가 관찰하였다. 그 외의 상대장기 무게에서 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Table 2).

3. 조직병리학적 진단 및 종양발생률

조직병리학적 진단으로 관찰한 종양의 발생률은 Table 3에 나타내었다. DEN으로 유발된 간발암 모델에 대한 BPA의 투여에 다른 간세포샘종과 간세포암종의 발생 및 총 간종양 발생율의 차이는 관찰되지 않았다. 본 연구에서 간세포 샘종(hepatocellular adenoma)의 육안적 소견은 인접한 정상 간장과 같은 색 또는 황갈색 혹은 옅은 황색조를 보인다. 간세포샘종의 모양은 원형 내지는 구형이며 다소 불규칙한 경계면을 갖는다. 현미

Table 2. Body weight changes and relative organ weights of rats treated with BPA at 10 and 18 weeks

Treatment	B.W.	Liver	Testes	Pituitary G.	Adrenal G.	Kidney	Ventral prostate
10 weeks DEN alone	278.9 ± 64.5	3.117 ± 0.268	1.085 ± 0.215	0.003 ± 0.001	0.024 ± 0.015	0.736 ± 0.062	0.122 ± 0.045
10 weeks DEN+BPA400	282.4 ± 14.2	2.670 ± 0.949	1.087 ± 0.044	0.003 ± 0.000	0.016 ± 0.002	0.707 ± 0.032	0.118 ± 0.017
10 weeks DEN+BPA1000	291.6 ± 11.6	2.854 ± 0.168	1.050 ± 0.062	0.002 ± 0.001	0.015 ± 0.004	0.705 ± 0.016	0.135 ± 0.021
10 weeks DEN+BPA4000	269.6 ± 12.8	3.063 ± 0.250	1.084 ± 0.069	0.003 ± 0.001	0.016 ± 0.002	0.749 ± 0.034	0.112 ± 0.022
18 weeks DEN alone	346.6 ± 18.2	3.062 ± 0.160	0.927 ± 0.047	0.002 ± 0.000	0.014 ± 0.001	0.676 ± 0.043	0.320 ± 0.046
18 weeks DEN+BPA400	340.3 ± 20.3	2.946 ± 0.190	0.952 ± 0.060	0.002 ± 0.000	0.014 ± 0.001	1.096 ± 1.697	0.351 ± 0.078
18 weeks DEN+BPA1000	345.2 ± 14.4	2.814 ± 0.110	0.934 ± 0.028	0.002 ± 0.000	0.014 ± 0.001	0.685 ± 0.101	0.309 ± 0.048
18 weeks DEN+BPA4000	304.1 ± 12.9*	3.340 ± 0.248*	1.013 ± 0.045*	0.003 ± 0.000	0.015 ± 0.003	0.698 ± 0.056	0.274 ± 0.081

*, Significantly different from control group with Dunnett's test (p<0.05)

Table 3. Tumor incidences of BPA on DEN-induced hepatocarcinogenesis

Treatment	No. of rats	HCA ^a	HCC	Total tumor incidence
DEN alone	15	7(50.0) ^b	1(7.1)	8(57.1)
DEN+400 ppm BPA	15	3(21.4)	5(35.7)	8(57.1)
DEN+1000 ppm BPA	15	5(35.7)	0(0.0)	5(35.7)
DEN+4000 ppm BPA	15	8(53.3)	3(21.4)	11(71.4)

a. HCA: hepatocellular adenoma, HCC: hepatocellular carcinoma
b. Percentage of tumor incidence

경적 소견으로 대개 하나의 소엽보다 큰 지역을 차지하는 병변으로서 일반적으로 원형이다. 증식성 결절의 간세포삭과 주변부 영향을 받지 않는 실질의 간세포삭은 서로 연속성이 결여되어 있어서 경계가 명확하다. 본 연구에서 관찰한 간세포암종(hepatocellular carcinoma)은 직경이 1 cm에서 10 cm 이상에 이르러까지 크기가 다양하고 경계면은 불규칙하지만 형태는 구형에 가까운 경향을 보인다(Fig. 4A). 병변이 간표면위로 돌출한 경우는 피막표면이 불규칙하며 뚜렷한 혈관이 그 위로 지나가는 경우도 있다. 현미경적 소견은 개

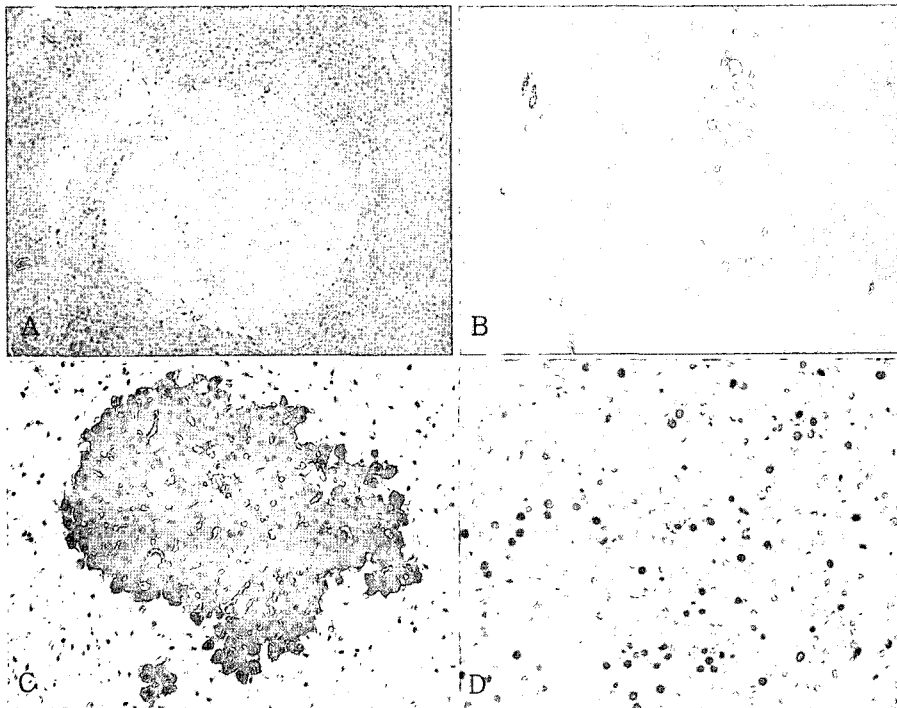
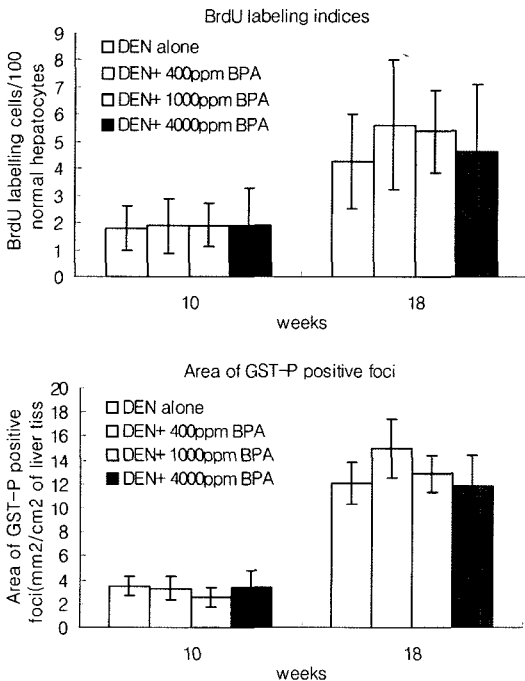


Fig. 4. Histopathologic findings and immunohistochemical studies in rat liver treated with BPA on DEN-induced changes. A: Hyperplastic nodule (X100, H&E), B: Hepatocellular carcinoma (X40, H&E), C: GST-P positive foci (X400, PAP method), D: BrdU labeling cells (X400, PAP method).

Table 4. BrdU labeling indices and area of GST-P positive foci in liver of rats treated with BPA at 10 and 18 weeks

Treatment	BrdU labeling indices (BrdU labeling cells per 1000 normal hepatocytes)		Area of GST-P positive foci (mm ² /cm ² of liver tissues)	
	10 weeks	18 weeks	10 weeks	18 weeks
DEN alone	1.81 ± 0.828	4.26 ± 1.99	3.5 ± 0.8	12.1 ± 1.7
DEN+BPA250	1.91 ± 1.012	5.64 ± 2.43	3.3 ± 1.0	15.0 ± 2.4
DEN+BPA1000	1.90 ± 0.867	5.39 ± 1.54	2.6 ± 0.8	12.9 ± 1.5
DEN+BPA4000	1.89 ± 1.371	4.61 ± 2.57	3.4 ± 1.4	11.9 ± 2.5

**Fig. 5.** BrdU labeling indices and area of GST-P positive foci of rats treated with BPA at 10 and 18 weeks.

개의 종양세포는 정상간세포와 비슷하며 지주형(trabecular pattern, Fig. 4B) 또는 선형(glandular pattern)으로 보인다. 더 진행되면 치밀형(solid pattern)으로도 관찰되기도 한다.

4. 면역조직화학적 검사

면역조직화학적 방법으로 BrdU 표지세포 수와 GST-P 면적의 측정결과는 Table 4와 Fig. 5에 나타내었다. GST-P 양성증식소는 병소부위 뿐만 아니라 조직학적으로 정상으로 관찰되는 간세포에서도 핵과 세포질 모두에서 양성반응을 보이며 관찰되었으며 2~3개의 세포가 무리지어 나타나기도 했다(Fig. 4C). BrdU 표지세포는 간세포의 핵에서만 양성반응을 보이며 관찰되었다(Fig.

4D). 세포증식능 및 DNA 합성능을 나타내는 BrdU 표지세포 수는 BPA와 DEN 병용투여군이 DEN 단독투여군에 비하여 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으며, GST-P양성 증식소의 면적도 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다.

IV. 고 찰

내분비계 장애물질의 간암에 대한 기능을 알아보기 위해서, 화학적으로 유발시킨 간암발생 모델에 BPA를 투여하여 간암발생에 대한 작용을 파악하고 기전을 알아보고자 하였다.

BPA는 에폭시, polycarbonate, 수지(resin)의 제조에 사용되는 단량체로써, 플라스틱 제품은 다양한 식품 및 음료수의 포장소재로 사용되고 resin은 일반적으로 통조림이나 병마개, 송수관 등과 같은 금속물질의 표면을 처리하는데 사용되며, 치과치료에서 sealant의 재료로 사용되기도 한다. 음수, 캔제품, 우유병 등의 음식물 포장재 등에서 발견된다. BPA는 통조림이나 polycarbonate 등에서 음식물에 유입되어 생체에 폭로되며, 현재 인간에 대한 폭로정도는 마우스의 생식기에 영향을 주는 용량과 비슷한 것으로 알려져 있다.

본 시험에서 적용된 간암모델은 별도의 발암촉진인자를 사용하지 않고 소량의 일정 DEN을 2주간 지속적으로 방출하는 mini-osmotic pump를 이용한 것으로 간세포의 종양 개시와 축진을 동시에 발생시킬 수 있었다.¹⁰⁾ 발암모델에서 사용되는 DEN은 간세포변이를 일으켜 이 변이세포의 일부가 정상으로 분화되지 못하고 생존하게 되어 클론성 증식으로 인해 종양이 발생하는 것으로 알려져 있다.^{11,12)}

BPA400, 1000 및 4000 ppm 혼합사료를 DEN으로 화학적 간암을 유발한 랫드에게 투여한 결과, 실험 10주 부검에서는 각 농도별 체중 및 상대장기 무게의 차이가 발견되지 않았다. 그러나 실험 18주 부검에서는 BPA 고농도 투여군의 체중이 대조군에 대하여 유의성 있게 감소하였으며 이는 BPA의 2년 발암시험에서

1000 ppm 이상 투여군에서 체중감소가 관찰된 결과와 유사하였다. 또한 18주의 간장과 고환의 상대장기 무게가 대조군에 비하여 유의성 있는 증가가 관찰되었으나 다른 장기에서의 유의성 있는 상대장기 무게의 변화는 관찰되지 않았다.

BrdU는 구조적으로 티민과 비슷하여 새로 합성되는 DNA에 삽입될 수 있다. 따라서 포유류 세포생물학에서 BrdU 함유 DNA를 면역세포화학적으로 검출하는 방법이 배양된 세포에서 세포주기 parameter를 정의하고, DNA 수리기작을 연구하며, 조직절편에서 암적인 병소를 동정하는데 사용되어왔다.^{13,14)} 본 연구에서, BrdU 표지세포는 세포의 핵막과 핵내 기질에서 면역양성반응을 나타내었다. DEN을 투여한 이후 10주와 18주의 간장조직에서 BPA투여군의 BrdU 표지세포수는 대조군에 비하여 다소 증가하는 경향은 관찰되었으나 유의성 있는 변화가 관찰되지는 않았다. Bimer 등 (2001)은 BrdU를 이용하여 세포의 교체속도를 측정하는 연구에서 BrdU가 빠르게 증식하는 세포의 DNA내에 삽입되는 것으로 보고하여, 종양조직에서의 시험물질의 작용을 파악할 수 있는 한 방법으로 제시하였으나 본 실험의 결과에서 나타난 바와 같이 화학적으로 유발한 간발암모델에서 xenoestrogen인 BPA의 투여는 10주 및 18주의 전암발생 단계에서는 영향을 미치지 못하는 것으로 생각된다. 본 실험 결과 BPA고농도 투여군의 간장의 상대장기 무게는 증가하였으나 BrdU 표지세포 수의 증가에는 영향을 미치지 않는 것으로 보아 BPA가 세포증식능과는 무관하게 다른 영향으로 간무게를 증가시켰다고 생각하는데 원인은 고농도 투여군의 체중의 감소 및 독성에 따른 간세포의 상대적인 보상작용이라고 추측하지만 자세한 기전은 밝혀져 있지 않다.

BrdU는 악성종양이 전이하는 과정에서, 전이되는 장기의 혈관내에서 면역양성반응을 보이기도 하지만,¹⁵⁾ 본 실험에서는 DEN에 의한 간원발성 종양이므로 혈관 내에서는 관찰되지 않았다.

스트레스 단백질의 일종으로 모든 고등동물세포들에 존재하는¹⁶⁾ GST(Glutathione S-transferase)는 2상 무독성화 효소(Phase II detoxification enzyme)으로 수용성과 세포막결합형으로 존재하며¹⁷⁾ 항암제, 발암원 및 이물질 등과 같은 광범위한 지질화합물에 대한 결합력으로 인해 세포간 부착특성 및 전달단백질의 역할을 한다. GST는 기질특이성 및 아미노산 서열에 따라 basic hepatic form (class alpha), near neutral hepatic form (class mu), placental form (class pi) 세 가지 isoenzyme으로 존재하며, 그중 placental form은 GST-P라고도 불리며, 태반에 존재하며 사람의 간암, 결장

암, 위암에서 발현되는 것으로 확인되고 있다. GST-P는 항암제 내성이 증가된 암세포주들로부터 유의하게 과발현되어 강력한 종양표식자(tumor marker)로서 인식되고 있으며, preneoplastic lesion에서도 과발현되어 설치류 간암의 실험모델에서 자주 사용되는 전암단계병변 표식인자 중 하나이다.^{18,19)} 본 실험에서, DEN으로 유발된 간전암단계의 랫드 간장에서 GST-P 양성병소 지수는 BPA투여군이 대조군에 비하여 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다. 이는 Solt-Farber 방법을 사용하여 유발한 랫드 간발암모델의 GST-P의 발현에 대해 Liu 등⁶⁾이 발암단계 중 estradiol을 투여한 경우 GST-P 양성병소의 발현억제가 관찰되었다고 보고한 결과와 다르게 나타난 것으로 보아 estradiol과는 다른 기전으로 작용하는 것으로 추정되며 이에 대한 기전연구가 필요한 것으로 생각된다. 현재 진행 중인 부검 26주의 BPA의 간암 수식효과를 관찰한 후 간암에 미치는 발암수식기전을 보다 명확히 규명하는 것이 좋다고 생각한다.

이상의 결과에서, DEN실험동물모델에 적용하여 10주와 18주에 관찰한 수컷 F344 랫드의 화학적 간발암 전암단계 및 종양발생단계에서의 BPA 투여에 따른 영향은 관찰되지 않았다.

감사의 글

본 연구는 국립독성연구원의 내분비장애물질사업(2004년)의 지원을 받아 수행하였으며 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Caroline, M. M., Enrique, H. L., Monica, M. T., Carlos, S. and Ana, M. S. : In Utero Exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. *Biology of Reproduction*, **65**, 1215-1223, 2001.
2. 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. : Bisphenol A interacts with the estrogen receptor alpha in a distinct manner from estradiol. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **142**, 203-214, 1998.
3. Nakagawa, Y. and Suzuki, T. : Metabolism of bisphenol A in isolated rat hepatocytes and oestrogenic activity of a hydroxylated metabolite in MCF-7 human breast cancer cells. *Xenobiotica*, **31**(3), 113-123, 2001.
4. Busch, F. X., Ribes, J. and Borrás, J. : Epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liver Dis.*, **19**, 271-285, 1999.

5. Yu, M. C., Yuan, J. M., Govindarajan, S. and Ross, R. K. : Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Can. Gastroenterol.*, **14**, 703-709, 2000.
6. Lui, W. Y., Lin, H. L., Chau, G. Y., Liu, T. Y. and Chi, C. W. : Male predominance in hepatocellular carcinoma: new insight and a possible therapeutic alternative. *Med. Hypotheses*, **55**(4), 348-350, 2000.
7. International agency of research on cancer. Cancer incidence in five continents volume VII. Lyon: IARC, 1997.
8. Sawaki, M., Enomoto, K., Takahashi, H., Nakajima, Y. and Mori, M. : Phenotype of preneoplastic and neoplastic liver lesions during spontaneous liver carcinogenesis of LEC rats. *Carcinogenesis*, **11**, 1857-1861, 1990.
9. Kemp, C. J. and Drinkwater, N. R. : Genetic variation in liver tumor susceptibility, plasma testosterone levels, and androgen receptor binding in six inbred strains of mice. *Cancer Res.*, **49**, 5044-5047, 1989.
10. Ahn, B., Han, B. S., Kim, D. J. and Ohshima, H. : Immunohistochemical localization of inducible nitric oxide synthase and 3-nitrotyrosine in rat liver tumors induced by N-nitrosodiethylamine. *Carcinogenesis*, **20**(7), 1337-1344, 1999.
11. Pitot, H. C., Dragan, Y. P., Teeguarden, J., Hsia, S. and Campbell, H. : Quantitation of multistage carcinogenesis in rat liver. *Toxicol. Pathol.*, **24**(1), 119-128, 1996.
12. Stewart, S. : Cellular origin of hepatocellular carcinomas. *Cell & Developmental Biology*, **13**, 419-424, 2002.
13. Birner, P., Ritzi, M., Musahl, C., Knippers, R., Gerdes, J., Voigtlander, T., Budka, H. and Hainfellner, J. A. : Immunohistochemical detection of cell growth fraction in formalin-fixed and paraffin-embedded murine tissue. *Am. J. Pathol.*, **158**(6), 1991-1996, 2001.
14. Bosq, J. and Bourhis, J. : Bromodeoxyuridine (BrdU). Analysis of cellular proliferation. *Ann. Pathol.*, **17**(3), 171-178, 1997.
15. Ishida, H., Iwama, T., Yoshinaga, K., Gonda, T. and Idezuki, Y. : Bromodeoxyuridine uptake by early liver metastases in rats: a comparison of the hepatic artery and portal vein infusion routes. *Surg. Today*, **28**(8), 822-829, 1998.
16. Ahel, M., McEvoy, J. and Giger, W. : Bioaccumulation of the lipophilic metabolites of moninic surfactants in freshwater organisms. *Environ Pollut.*, **79**, 243-249, 1999.
17. Lee, P. C. : Disruption of male reproductive tract development by administration of the xenoestrogen, nonylphenol, to male newborn rat. *Endocrine*, **9**, 105-111, 1998.
18. De Jager, C., Bornman, M. S., Wandrag, S. and van der Horst, G. : Effect of p-nonylphenol, an environmental toxicant with oestrogenic properties, on fertility potential in adult male rats after gestational, lactational and direct exposure. *Andrologia*, **31**, 107-113, 1999.
19. Busch, F. X., Ribes, J. and Borrás, J. : Epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liver Dis.*, **19**, 271-285, 1999.
20. Yeo, M. K. : Effects of bisphenol A and nonylphenol on zebrafish embryogenesis. *Korean Journal of Environmental Health*, **29**(5), 1-9, 2003.
21. Choi, K., Hwang, S. H., Kwon, E. and Kim, P. G. : The reproductive toxicity by combined treatment of bisphenol A and butyl benzyl phthalate during gestation, lactation period in rats. *Korean Journal of Environmental Health*, **30**(2), 71-78, 2004.
22. Kim, Y. J. : Reaction conditions for laccase catalyzed degradation of bisphenol A. *Korean Journal of Environmental Health*, **30**(2), 79-83, 2004.
23. Kim, P. G., Lee, N. R. and Hwang, S. H. : The bisphenol A : A modulator of pregnancy in rats. *Korean Journal of Environmental Health*, **29**(4), 27-34, 2003.