

흰쥐 혀침샘의 점액질에 미치는 *N*-Nitrosodimethylamine 독성에 대한 녹차의 완화 효과

조은주 · 정길남 · 조운복[†]

부산대학교 사범대학 과학교육학부 생물교육전공

The Alleviating Effects of Green Tea on *N*-Nitrosodimethylamine Toxicity to Mucins in the Rat Lingual Salivary Glands

Eun Ju Cho, Gil Nam Jeong, and Un Bock Jo[†]

Biology Education Major, Division of Science Education, College of Education,
Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Abstract

This study was performed to determine alleviating effects of green tea (GT) on the *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) toxicity to mucins in the rat lingual salivary glands. Sprague-Dawley rats were divided into five groups: untreated (Control), one week-NDMA administrated (NDMA), one week-GT administrated after NDMA for one week (NDMAGT), one week-NDMA administrated with GT (GTNDMA), and one-week NDMA administrated with GT after GT for one week (GTGTNDMA). The mucin properties were elucidated by periodic acid Schiff (PAS) reaction, alcian blue (AB) pH 2.5, AB pH 2.5-PAS, aldehyde fuchsin (AF) pH 1.7-AB pH 2.5, and high iron diamine (HID)-AB pH 2.5 staining. The lingual *von Ebner's* glands of NDMA group showed some changes such as contraction and destruction of the serous acini, decrease and disappearance of the cytoplasmic granules, vacuolation of cytoplasm, and the mucigenous duct cells. Also, in the lingual mucous glands, enlarged lumens, fused acini, disappearance of granules, vacuolation of cytoplasm, and mucigenous duct cells were observed. All the GT administrated groups had a tendency to recover. GTGTNDMA group recovered almost up to the state of the control group. The lingual *von Ebner's* glands of NDMA group showed a decrease of neutral mucin and the lingual mucous glands showed a decrease of both neutral and acidic mucins decreased in comparison with control group, although mucous acini secreting strong sulfomucin decreased while those secreting non-sulfomucin (sialomucin) increased. All the GT administrated groups had a tendency to recover. The degree of recovery in the GTNDMA group was stronger than in NDMAGT group and that of the GTGTNDMA group was almost up to the state of the control group. Plus, lingual *von Ebner's* glands of GTGTNDMA group contained much more neutral mucin than in the control group. In conclusion, it is suggested that NDMA exhibit the toxicity which affects on the mucin properties and which green tea alleviates.

Key words: green tea, epigallocatechin gallate, *N*-nitrosodimethylamine (NDMA), salivary glands, mucin

서 론

N-nitrosocompounds는 발암성, 돌연변이원 및 최기인자로 작용하는 것으로 알려져 있고(1,2) 생물학적으로 영향을 미치는 것이 약 300여종으로 여기에 대한 많은 연구가 이루어져 오고 있다. 아질산염이 2급 또는 3급 아민류와 반응하여 생성되는(3) *N*-nitrosamine은 dialkylnitrosamine, cyclicnitrosamine 및 acylalkyl-nitrosamine 등으로 나눌 수 있고 식료품(4), 화장품과 삼푸(5), 체초제(6) 및 담배(7)에서도 검출되며, 이 중 가장 흔한 dialkylnitrosamine은 dimethylnitrosamine과 diethylnitrosamine으로 식품 속에서 쉽게 검출된다(2,8). 특히 식품 속의 아질산염은 위의 산성 환

경 하에서 아민류와 반응하여 nitrosamine을 생성시키며, 중성과 알칼리성에서도 장박테리아 같은 적당한 촉매가 있으면 니트로소화반응이 일어난다(3).

이 중 *N*-nitrosodimethylamine(NDMA)은 dimethylamine과 nitrate의 상호작용에 의해 형성되며 분자량 74.08의 $C_2H_6N_2O$ 로 실험동물에 강력한 발암원이 되며(9) 사람에게서도 NDMA에 과다하게 노출 시 구역질, 설사, 복통, 두통, 발열, 황달 등의 증상과 간, 신장, 폐의 기능 저하를 초래하며(10) 위장관의 발암원으로 작용한다고 알려져 있다(11). 사람의 NDMA로의 노출은 흡연과 간접흡연(environmental tobacco smoking)뿐 아니라(12) NDMA가 함유된 식품의 섭취 혹은 nitrate에 오염된 음료수나 nitrate 혹은 nitrite

[†]Corresponding author. E-mail: ubjo@pusan.ac.kr
Phone: 82-51-510-2696, Fax: 82-51-514-8576

compound를 사용한 저장식품 섭취 후 소화기내에서의 일련의 반응에 의해서도 일어날 수 있다(13).

NDMA에 대한 연구로는 nitrosamine의 대사작용(9), NDMA가 혈중 효소활성에 미치는 영향(14), 십이지장샘과 술잔세포에 미치는 영향(15) 및 허침샘의 점액질에 미치는 영향에 대한 연구(16) 등이 있으나 NDMA 독성의 완화물질에 대한 연구는 많지 않다.

차는 75~80%의 수분과 20%의 고형물질인 catechin, 그 외 카페인, 비타민 C 등으로 구성된 식물로서 과일이나 야채보다도 강력한 항산화물질을 함유하고 있어 저밀도 지단백질(low density lipoprotein)의 혈중 농도를 감소시킨다(17). 이 중 차나무 잎의 엽록소를 그대로 보존시킨 비 발효차인 녹차는 catechin으로 알려진 flavanol류를 가지고 있어 노화 촉진 물질인 과산화지질을 생성하는 불포화지방산의 산화를 억제시키는 강한 항산화력을 나타낸다(18,19). 또한 catechin은 지방 분해효소를 강화시키고 신경을 자극하는 카페인의 작용을 억제시키며 catechin 성분의 하나인 epigallocatechin gallate가 항염증 및 tumor necrosis factor- α (TNF- α)의 분비를 억제(20), 혈관형성을 차단(21), free radical을 폐기시키며(22), 알츠하이머병 징후 중의 하나인 조정 및 기억능력 교란 진행을 지연시키거나 회복시킨다(23)고 하였다.

녹차 추출액이 항균, 항종양, 항십이지장암, 항십이지장궤양 등에 미치는 영향이 보고되면서 녹차의 암 발병 억제 및 예방 효과가 주목되고 있으며 녹차가 소화관 점막상피의 정상화 인자로 소화 기관에서 녹차의 독성 완화 효과에 대한 연구(24), 내분비 호르몬의 작용을 교란시키는 환경호르몬의 일종인 dioxin의 체외 배출효과에 대한 연구, 간독성을 유발하는 2-nitropane에 대한 녹차의 해독효과에 관한 보고(25) 등이 있다.

본 연구에서는 간암을 유발시키며 허침샘의 점액질에 독성을 나타내는 NDMA와 항암, 항궤양 작용이 있는 녹차를 흰쥐에 투여하여 녹차의 NDMA 독성에 대한 완화효과를 규명할 목적으로 허침샘의 조직학적 변화와 중성 및 산성 점액질의 양과 그 성장변화를 조직화학적으로 연구하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 처치

실험 동물은 자유급식법으로 무게 250~300 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 중 수컷만을 사용하여 실험군과 대조군으로 나누어 사육하였다. 대조군은 식수를 사용하였고, 실험군은 0.004% NDMA를 식수에 첨가하여 1주일 사육한 군(NDMA군), 0.004% NDMA를 식수에 첨가하여 1주일 사육한 후 녹차 추출액을 1주일간 섭취시킨 군(NDMAGT군), 녹차 추출액에 0.004% NDMA를 첨가하여 1주일 사육한 군(GTNDMA군), 녹차 추출액을 1주간 섭취시킨 후 0.004% NDMA를 포

함한 녹차 추출액으로 1주일 사육한 군(GTGTNDMA군)으로 구분하였으며 녹차 추출액은 Hayashi 등(26)의 방법에 따라 (주)태평양에서 생산된 설록차 3 g을 80°C의 식수 100 mL에 3분간 두어 추출액을 얻었다.

조직학적 구조 및 점액질의 조직화학

대조군과 실험군의 조직학적 구조를 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색과 PAS 염색을 실시하였다. 허 *von Ebner* 샘과 허 점액샘의 중성점액질을 검색하기 위해서는 PAS 염색을, 산성점액질을 검색하기 위해서는 AB pH 2.5 염색을 사용하였고, 중성점액질과 산성점액질의 조성을 검색하기 위해서는 AB pH 2.5-PAS 염색을, 산성점액질 중 sulfomucin과 sialomucin의 조성을 검색하기 위해서는 AF pH 1.7-AB pH 2.5 염색 및 HID-AB pH 2.5 염색을 사용하였다.

점액질에 대한 조직화학적 판정 기준은 청색은 B(blue), 적색은 R(red), 자색은 P(purple), 청자색은 BP(bluish purple), 적자색은 RP(reddish purple), 흑색은 N(black), 흑청색은 NB(blackish blue), 청흑색은 BN(bluish black)으로 표시하였고, 염색성의 등급은 염색된 정도에 따라 염색성이 없는 경우는 0, 흔적적인 경우는 \pm , 약한 염색성은 1, 중등도 염색성은 2, 강한 염색성은 3, 매우 강한 염색성은 4로 하여 6등급으로 나누어 표시하였다.

결 과

대조군 및 투여군 허침샘의 조직학적 소견

대조군: 허 *von Ebner*샘은 장액샘파리들로 된 순수 장액샘이었으며 허의 유곽유두 아래 결합조직 내에 넓게 무리를 지어 나타났다. 장액샘파리들은 피라밋형 장액세포들로 되어 있었고 장액세포의 세포 바닥부에 진하게 염색되는 구형 또는 타원형의 핵이 뚜렷하고 핵상부의 세포질에는 H-E 염색에 산호성을 띠는 분비과립들로 충만되어 있었다. 장액샘파리들 사이에 짧은 도관들이 관찰되었으며 이 도관은 단층 입방상피로 덮여 있고 허등쪽면에 개구하고 있었다.

허 점액샘은 허뿌리 부분의 허등쪽면 결합조직에 무리를 지어 널리 분포하고 있었으며 점액샘파리는 변형된 원추형 또는 피라밋형이었다. 핵은 대개 납작하고 진하게 염색되어 있는데 점액세포 바닥막 쪽에 치우쳐 있었다. 세포질 점액소 원과립은 H-E 염색에 염색되지 않고 밝게 나타났다. 크고 작은 점액샘파리들 사이에 샘속 공간이 없는 미성숙 점액샘파리들이 약간 관찰되었고 잘 발달된 도관들이 허등쪽면에 개구하고 있었다.

실험군: NDMA군에서는 대조군에 비해 허 *von Ebner*샘의 장액샘파리가 위축되어 크기가 작아지거나 탈락과 파괴가 심하게 일어났고 장액세포의 세포질 분비과립은 탈과립되어 감소 및 소실이 일어나 세포 내 염색성은 줄어들었으며

탈과립된 분비과립들이 장액세포막 바깥에서 군데군데 더미를 이루고 있는 것이 관찰되었다. 또한 장액세포의 세포질의 공포 변성은 대조군과 비교하여 현저히 나타나며 공포화된 장액세포 사이로 도관의 점액화가 비교적 자주 관찰되었다. 혀 점액샘에서는 세포질이 파괴되고 샘속 공간전체에 걸쳐 부풀어서 퍼진 점액샘파리가 많이 나타났으며 점액샘파리가 확장·융합된 것과 심하게 파괴된 것도 관찰되고 미성숙 점액샘파리들이 관찰되었다. 점액세포의 핵상부 세포질에는 크고 작은 공포들이 관찰되었고 확장된 샘파리의 속 공간에는 그물모양의 분비물이 차 있었다. 또한 도관 상피의 점액화도 나타났다.

반면 NDMAGT군에서의 혀 *von Ebner*샘은 장액샘파리가 위축, 파괴된 것이 현저히 줄어들었으며 도관의 점액화도 NDMA군에 비해 많이 줄어들었다. 또한 혀 점액샘에서는 확장·융합된 점액파리의 수가 현저히 줄어들었고 미성숙 점액파리의 수도 줄어들었음이 관찰되었다. GTNDMA군에서의 혀 *von Ebner*샘의 장액 세포 세포질은 탈과립된 분비과립의 양이 현저히 적어서 염색성이 진행고 세포질의 공포 변성은 거의 관찰되지 않았다. 혀 점액샘은 점액샘파리의 샘속 공간이 확장되고 점액샘파리들이 융합된 큰 샘파리가 몇몇 관찰되었으나 거의 대조군과 같은 수준으로 회복된 경향을 나타내었다. GTGTNDMA군은 대조군과 가장 가까운 형태로 회복되었을 뿐 아니라 분비과립의 염색성이 대조군

보다 오히려 더 강한 것도 관찰되었다.

대조군 및 투여군 혀침샘 점액질의 조직화학적 성상

대조군과 실험군의 혀 *von Ebner*샘과 혀 점액샘의 점액질에 대한 염색성은 Table 1, 2에서 보는 바와 같다.

대조군: PAS 반응, AB pH 2.5 염색, AB pH 2.5-PAS 염색, AF pH 1.7-AB pH 2.5 염색 및 HID-AB pH 2.5 염색 등의 염색성을 종합해 본 결과 혀 *von Ebner*샘과 혀 점액샘의 점액질 성상에 차이가 있었다. 혀 *von Ebner*샘의 장액샘파리는 PAS 염색에 강한 적색 내지 고도의 강한 적색으로 염색되었으나, 그 외 염색들에는 염색성이 없는 것으로 보아 상당량 내지 다량의 중성점액질만을 함유하고 있었다. 혀 점액샘의 점액샘파리는 PAS, AB pH 2.5 및 AB pH 2.5-PAS 염색성으로 보아 상당량 내지 다량의 산성점액질과 중성점액질을 가지며, 대부분의 점액샘파리는 AF pH 1.7-AB pH 2.5 및 HID-pH 2.5 염색 결과로부터 보아 산성점액질 중 강 sulfomucin을 상당량 함유하고 있고, 점액샘파리 사이 군데군데에는 중등량의 sialomucin과 소량 내지 중등량의 약 sulfomucin을 함유한 약간의 점액 세포들도 섞여 있었다(Figs. 1a, 2a, 3a, and 4a).

실험군의 혀 *von Ebner*샘: NDMA군은 대조군에 비해 장액샘파리의 중성점액질의 양이 감소하였으나 NDMAGT군과 GTNDMA군에서 회복되는 경향을 나타내었고

Table 1. Effects of green tea on the mucosubstances in the rat lingual *von Ebner*'s glands after administration of NDMA in drinking water

Stains	Cells	Control	Experimental groups			
			NDMA	NDMAGT	GTNDMA	GTGTNDMA
PAS	SAC	3-4R	3R>2R	3R>4R	4R>3R	4R
	ISC	3-4R	2R>3R	3R>4R	4R>3R	4R
	DC	0±R	±1R	0±R	0,±R	±R
	SPDL	2-3R	4R>3R	2-3R	2R,3R	3R>2R
AB pH 2.5	SAC	0	0>±B	0	0	0
	ISC	0	0>±B	0	0	0
	DC	0	0	0	0	0
	SPDL	0	0	0	0	0
AB pH 2.5 -PAS	SAC	3-4R	3-4R>3RP,2R	3R>2R	3-4R	3-4R
	ISC	2-3R	3R	2-3R	2-3R	3R
	DC	0>±R	0	0	0	±R>0
	SPDL	3R>4R	4R	3R	4R	4R
AF pH 1.7 -AB pH 2.5	SAC	0	0>±-1P	0>±P	0>±P	0>±P
	ISC	0	0	0	0	0
	DC	0	0	0	0	0
	SPDL	0	0	0	0	0
HID -AB pH 2.5	SAC	0	0>±-1N	0>±-1N	0>±N	0>±N
	ISC	0	0	0	0	0
	DC	0	0	0	0	0
	SPDL	0	0>±N	0>±-1N	0	0

Degrees of staining: 4, very intense; 3, intense; 2, moderate; 1, weak; ±, trace; 0, absent; >, most marked.

Abbreviations: NDMA, one week-NDMA administrated; NDMAGT, one week-GT administrated after NDMA for one week; GTNDMA, one week-NDMA administrated with GT; GTGTNDMA, one-week NDMA administrated with GT after GT for one week; AB, alcian blue; PAS, periodic acid schiff; AF, aldehyde fuchsin; HID, high iron diamine; MAC, mucous acinar cells; SAC, serous acinar cells; ISC, immature serous cells; DC, duct cells; SPDL, secretory products of duct lumen; B, blue; BP, bluish purple; R, red; RP, reddish purple; P, purple; N, black; NB, blackish blue; BN, bluish black.

Table 2. Effects of green tea on the mucosubstances in the rat lingual mucous glands after administration of NDMA in drinking water

Stains	Cells	Control	Experimental groups			
			NDMA	NDMAGT	GTNDMA	GTGTNDMA
PAS	MAC	3R>4R	2,3R>1R	3R>1-2R	3R>4R>2R	3-4R
	SPM	3R-4R	0-2R>3R	3R>2R	3-4R>2R	3-4R
	IMC	4R>3R	3-4R	3-4R	3-4R	3-4R
	DC	±-1R	±-3R	±-1R	±-2R	±-1R
	SPDL	3-4R>1-2R	±-1R	1-2R	1-2R>±R	1-2R
AB pH 2.5	MAC	3-4B	2-3B>±-1B	3B>1B,2B,4B	3B>2B,4B	3-4B>2B
	SPM	3B	0-3B	3B>0-2B,4B	3B>2B	3B>1B
	IMC	4B	2-3B>4B	3B>2B,4B	3B>4B	4B>3B
	DC	0	0>1-2B	0,±B	0	0
	SPDL	1-3B	1-2B	2B	2-3B	2-3B
AB pH 2.5 -PAS	MAC	4BP,4P>3RP	2-3BP,2-3P>1-2P,2RP	2-3P>3BP,2RP,1P	4P,4BP>1P,2BP,3RP	4P,4BP>3P,3BP
	SPM	3BP	±-2BP,2P	2P,2BP	4P,3BP	4P,4BP
	IMC	4BP,4P>3RP	3BP,3P>3RP	4BP,4P>3RP	4P,4BP	4P,4BP>3P
	DC	±-R	3R>0,3P	±R	±-R	0-±R
	SPDL	3R,3RP	2P>3RP	2BP,2R	2BP	3BP>2R
AF pH 1.7 -AB pH 2.5	MAC	3-4P>2-3BP,3B	2-3P,1-2B>2BP	1-3P>1-2BP,2B	2-3P>2BP	2-3P>2BP,2B
	SPM	2-3P>2BP	0-2P>2BP	1-2P>1BP	0-2P>1BP	3P,2BP
	IMC	3P>2-3BP,2B	2-3P>1-2B,1BP	2-3P>2BP	2-3P	2-3P>2BP
	DC	0	0>±-1P,1BP	0>±BP	0>±P,±BP	0>±P
	SPDL	3BP	1P,1-2BP	1BP,1P	2P	2BP,1P
HID -AB pH 2.5	MAC	2-3N>1N	1-2N>3N	2N>1,3N	2N>1N,3N	3N>1-2N
	SPM	2N>3N	1-2N	2N>1N	2N>1N,3N	2-3N
	IMC	3N>2N	2N>1N	2N	2-3N	2N,3N
	DC	0	0>±N	0,±N	0>±N	0
	SPDL	1-3N	0-1N	1,2N	2N	1-2N

Abbreviations: SPM, secretory products of mucous acini; IMC, immature mucous cells. Degrees of staining and other abbreviations are the same as in the Table 2.

GTGTNDMA군에서는 중성점액질의 염색성이 대조군보다 더 강하게 나타났다. 대조군에서 관찰되지 않던 산성점액질을 미량 분비하는 약간의 장액 세포들이 NDMA군에서 관찰되었다. 또한 NDMA군에서는 대조군에 비해 도관 상피 세포에서 중성점액질이 증가하였고 도관 내강의 분비물의 양도 증가하였으나 녹차를 투여한 실험군 모두에서 대조군 수준으로 현저히 회복되었다(Figs. 1b, 1c, and 1d).

실험군의 혀 점액샘: NDMA군은 대조군에 비해 점액질에 대한 염색성이 현저히 감소하였는데, 녹차를 투여했던 모든 실험군들에서는 회복되는 경향이 나타났다. NDMAGT군보다는 GTNDMA군에서 더 많은 회복이 관찰되었으며, GTGTNDMA군에서는 대조군과 거의 유사한 수준까지 회복되는 경향을 나타내었다.

NDMA군에서 산성점액질과 중성점액질의 양이 감소되어 관찰되었는데, 특히 산성점액질이 현저히 감소하였다. 점액질의 감소는 미성숙한 점액세포보다 공포화되고 탈과립된 정도가 더 큰 성숙한 점액세포에서 많이 관찰되었다. 산성점액질의 조성으로 보면 강 sulfomucin을 분비하는 점액샘파리는 감소하고 sialomucin을 분비하는 점액샘파리가 현저히 증가하였다. 도관은 증식되어 관찰되는데 도관 상피 세포에서의 점액질 증가에 있어서는 산성점액질보다 중성점액질 양의 증가가 현저했다.

NDMAGT군에서는 확장, 파괴된 점액샘파리들이 현저히 회복되어서 관찰되었지만, 점액질의 양과 염색성의 회복 경향은 더디었다. 중성점액질보다는 산성점액질의 회복이 더 두드러졌다. GTNDMA 군에서의 회복 경향은 NDMAGT군에서보다 더 두드러졌는데 점액질의 양이 증가되어 염색성이 상당히 진해졌다. 산성점액질의 회복 경향이 현저한데 강 sulfomucin을 분비하는 점액샘파리의 수가 증가하는 반면, sialomucin을 분비하는 점액샘파리 수는 급격히 줄어든 것으로 관찰되었다. GTGTNDMA군에서는 회복되는 정도가 가장 현저하여 점액질 양과 그 조성이 거의 대조군 수준으로 회복되었으며 분비 과립의 양과 그 염색성이 대조군보다 더 강한 점액파리도 관찰되었다(Figs. 2b~2d, 3b~3d and 4b~4d).

고 찰

구강점막 및 혀점막은 암호발 부위로 알려져 있으며(27), 특히 구강암과 혀암의 위험인자로 흡연이 관여하는 것으로 알려져 있다(28). 담배(8) 및 식료품(4)에 많이 함유되어 있는 *N*-nitrosamine은 dialkylnitrosamine, cyclonitrosamine 및 acylalkylnitrosamine 등으로 나눌 수 있는데 이 중 가장 흔한 dialkylnitrosamine은 dimethylnitrosamine과 diethylni-

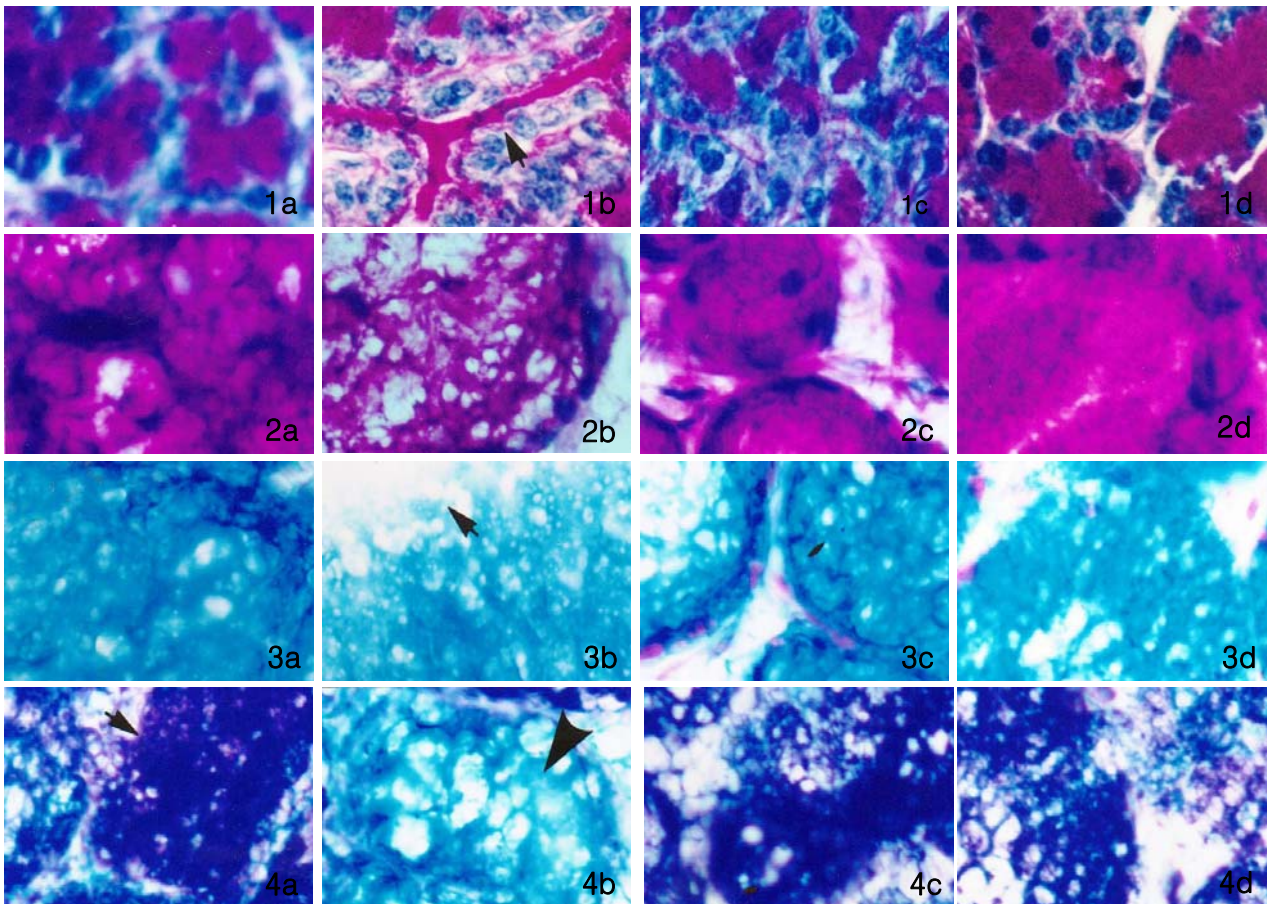


Fig. 1. PAS reaction in the rat lingual *von Ebner's* glands. $\times 400$. In the control group (1a), PAS stainability of the lingual *von Ebner's* glands exhibited intense red coloring, however, in NDMA group (1b), the stainability became diminished drastically compared with the control group. Note the presence of mucous ducts (arrow). GTNDMA group (1c) exhibited recovering tendency in the stainability. GTGTNDMA group (1d) recovered almost up to the state of the control group and its stainability was stronger than that of the control group.

Fig. 2. PAS reaction in the rat lingual mucous glands. $\times 400$. In the control group (2a), PAS stainability exhibited intense red coloring. The stainability diminished drastically in the NDMA group (2b) with denaturalized and enlarged acini. GTNDMA group (2c) exhibited recovering tendency in the stainability. GTGTNDMA group (2d) recovered almost up to the state of the control group in the stainability and the shape of mucous acini.

Fig. 3. AB pH 2.5 staining in the rat lingual mucous glands. $\times 400$. In the control group (3a), alcian blue pH 2.5 stainability of lingual mucous glands exhibited intense blue coloring, however, in NDMA group (3b) the stainability diminished remarkably. Note enlarged lumen, disappearance of granules and vacuolation in the cytoplasm (arrow). GTNDMA group (3c) exhibited recovering tendency in the stainability. GTGTNDMA group (3d) recovered almost up to the state of the control group in the stainability and the shape of mucous acini.

Fig. 4. AF pH 1.7-AB pH 2.5 staining in the rat lingual mucous glands. $\times 400$. In the control group (4a), sulfomucin secreting cells (arrow) exhibited intense purple coloring were much more than sialomucin secreting cells exhibited intense blue or bluish purple coloring. In the NDMA group (4b), the amount of sulfomucin secreting cells decreased, but the amount of sialomucin secreting cells increased remarkably (arrow head). GTNDMA group (4c) exhibited recovering tendency. GTGTNDMA group (4d) recovered almost up to the state of the control group in the ratio between sulfomucin secreting cells and sialomucin secreting cells.

trosamine으로 식품 속에서 쉽게 검출된다(2,8).

NDMA는 실험동물에 강력한 돌연변이원(9)으로 작용하는데, 특히 식품을 통해서나 그 밖의 외부환경에 쉽게 노출되는 물질로써 역학적 조사에 의해 사람에게도 발암원으로 작용한다고 알려져 있다(11). NDMA는 NADPH(nicotinic adenine denucleotide phosphate의 환원형)와 산소를 사용하여 미세효소에 의해 대사되는 물질로, 이때의 반응산물은 인체의 기관에 영향을 주는 반응성 알킬화계 물질을 생성하

여 독성을 유발한다고 한다.

본 연구에서 NDMA군의 혀 *von Ebner*샘의 형태적인 주된 변화는 장액샘파리의 위축, 장액샘파리의 파괴, 장액샘파리의 세포질 감소, 소실 및 공포변성 그리고 도관상피세포의 점액화였으며, 혀 점액샘의 주된 형태적 변화는 점액샘파리의 확장, 융합, 파괴 및 점액세포의 세포질의 파립 소실 및 공포변성, 도관상피의 점액화 등이었다. 이러한 연구결과는 유기인계 농약인 DDVP, malathion, dipterex 및 EPN(29),

carbamate계 농약 bassa, 유기염소계 thiodan 및 pyridin계 제초제 gramoxone(30)을 흰쥐에 투여한 후 관찰한 혀 *von Ebner*샘과 혀 점액샘에 미치는 영향과 정도의 차이는 있지만 유사한 변화를 나타내었으며, 또한 Park(15)의 NDMA 투여 후 흰쥐 십이지장샘과 술잔세포에서 일어나는 변화와 유사하였고 Jo와 Jo(16)의 NDMA가 혀침샘의 glycoconjugates에 미치는 영향에 대한 연구 결과와 일치하였다. 또한 본 연구에서 도관상피의 점액화가 일어나는 것은 각종 침샘의 종양 시 일어나는 변화(31)와 유사한 것으로 사료되며 NDMA가 담배 연기 속에 많이 함유되어 있는데 이것은 흡연이 혀암의 위험인자로 관여한다(12,28)는 보고들을 뒷받침 해주는 결과라고 사료된다. 그리고 침샘은 감성인자, X선 조사, 감염 혹은 atropin 및 항히스타민제 같은 약물 등에 의해 그 분비기능에 장애가 일어난다는 보고(32)처럼 NDMA도 흰쥐의 혀 *von Ebner*샘과 점액샘의 대사에 심대한 영향을 미치는 것으로 사료된다.

NDMA군에 비해 NDMAGT군에서는 혀 *von Ebner*샘의 장액샘파리 손상 및 도관 점액화현상이 현저히 줄어들었으며, 혀 점액샘 역시 확장·융합된 점액파리의 수 및 미성숙 점액파리 수가 현저히 감소되었다. GTNDMA군에서는 혀 *von Ebner*샘의 장액 세포의 세포질은 탈과립된 분비과립의 양이 적어서 염색성이 진하고 세포질의 공포변성은 거의 관찰되지 않았다. 혀 점액샘에서는 점액샘파리의 샘속 공간이 확장되고 점액샘파리들이 융합된 큰 샘파리가 몇몇 관찰되었으나 거의 대조군과 같은 수준으로 회복된 경향을 나타내었다. GTGTNDMA군은 대조군과 가장 가까운 형태로 회복되었을 뿐 아니라 분비과립의 염색성이 대조군보다 오히려 더 강한 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 비타민 C가 혈액 및 간에 미치는 nitrosamine의 독성에 대해 억제제로 작용을 하여 거의 정상군과 유사한 수준으로 회복하게 한다는 연구 보고(33) 및 비타민 C가 gramoxone으로 인한 십이지장 점막 상피 술잔세포의 공포 변성 및 세포막 파괴를 완화시킨다는 보고(19)와 거의 일치함을 알 수 있다.

침샘은 분비물의 생화학적 성질에 따라 조직학적으로 장액샘, 점액샘 및 혼합샘(장점액샘)으로 구분되며, 소화관 점액세포에서 분비되는 점액질은 소화관 점막 표면에 대한 윤활제로서의 물리적 작용 외에 각종 화학 물질, 병독소, 기계적인 자극 및 각종 소화 효소의 침해로부터 점막을 보호하는 역할을 하고 있으며, 점액질로 된 점액 장벽은 지극히 얇은 농도로도 그 기능을 나타내고 세포막 근접 영역의 환경 조성에도 영향을 미친다(34).

점액세포와 점액샘의 분비물인 점액질은 조직화학적으로 산성기의 유무에 따라 산성점액질과 중성점액질로 분류하고(34), 산성점액질을 OSO_3H 기의 유무에 따라 sulfomucin과 nonsulfomucin으로 나누고 sulfomucin을 강 sulfomucin과 약 sulfomucin으로, nonsulfomucin은 sialomucin, siall-dase resistant sialomucin, hyaluronic acid 및 기타 산성군

을 가진 점액질로 나누고 있다(35). 본 연구에서는 중성점액질과 산성점액질의 양의 변화와 산성점액질 중 sulfomucin과 sialomucin의 조성을 검색하여 대조군, NDMA군, NDMAGT군, GTNDMA군 및 GTGTNDMA군 사이에 일어나는 변화를 추시하였다.

본 연구의 대조군 혀 *von Ebner*샘은 상당량 내지 다량의 중성점액질만을 함유하고 있어 Jo(29), Park(30) 및 Lee(36) 등의 연구 결과와 일치하였으며, 혀 점액샘은 Jo(29) 및 Jo와 Jo(16)의 결과처럼 중성점액질과 산성점액질의 혼합성이었는데 상당량의 중성점액질과 상당량 내지 다량의 산성점액질을 가지고 있으며, 산성점액질 중에는 강 sulfomucin이 상당량 함유되어 있었고 중등량의 sialomucin과 소량 내지 중등량의 약 sulfomucin을 함유한 약간의 점액 세포들도 섞여 있어 여러 선행연구에서의 보고(16,29,30,34-36)와 일치하였다.

NDMA군에서 혀 *von Ebner*샘은 대조군에 비해 장액샘 파리의 중성점액질의 양이 감소하였고 대조군에서 나타나지 않던 산성점액질이 미량 분비되는 약간의 장액 세포들이 관찰되었다. 이와 같은 결과는 대부분의 장액파리들에서 각종 농약들이 혀 *von Ebner*샘에 미치는 영향(29,30)과 유사한 결과를 나타내었으나 일부 장액샘파리 세포들에서 미량의 산성점액질이 나타나는 것이 각종 농약 투여군과 차이가 있는 것으로 보아 각종 농약들이 혀 *von Ebner*샘에 미치는 독성과 유사한 독성을 대부분의 장액샘파리들에서 유발시키나 일부 장액샘파리 및 도관상피에서 점액화가 일어나고 산성점액질의 분비가 인정되는 것은 상피성 종양 시 일어나는 결과(31)와 유사하여 NDMA가 각종 농약들보다 더 강한 독성을 나타내는 것으로 사료된다. 혀 점액샘은 산성점액질과 중성점액질의 양이 감소되었는데 특히 산성점액질이 현저히 감소하였다. 이와 같은 사실은 Jo(29)의 유기인제 농약인 DDVP, malathion, dipterex 및 EPN이 흰쥐 혀침샘에 미치는 영향과 Park(30)의 유기인제 농약인 PAP, carbamate제인 bassa, 유기염소제인 thiodan 및 제초제인 gramoxone이 흰쥐 혀침샘에 미치는 영향과 비슷하였으나 본 연구에서 도관상피의 점액화가 일어나 각종 타액샘 종양 시 일어나는 변화(31,32)와 유사한 변화가 일어난 것으로 보아 각종 농약들보다 더 강한 독성을 나타내는 것 같다. 또한 이 결과가 Lee(36)의 흡연이 흰쥐 혀침샘의 점액질에 미치는 영향에 대한 연구 결과와 일치하여 사람의 NDMA로의 노출이 흡연 및 간접흡연에 의해 일어날 수 있다(12)는 연구결과를 뒷받침한다고 여겨진다. 또한 산성점액질의 조성으로 보면 강 sulfomucin을 분비하는 점액샘파리는 현저히 감소하고 sialomucin을 분비하는 점액샘파리가 증가하는데 이 결과는 조직화학적 병변이 생기면 sulfomucin이 감소되고 sialomucin이 증가한다(19,37)는 보고와 일치한다. NDMA군에서 산성점액질과 중성점액질의 감소와 증가, 그리고 성장변화와 같은 변화가 일어나는 것으로 보아 생체 방어 기작에 강한 내

적 환경조성에 중요한 생리적 역할을 담당하는 점액질이 NDMA 독성에도 적극적으로 방어 기작에 관여하는 것으로 사료된다.

GTNDMA군에서의 회복 경향은 NDMAGT군에서보다 더 두드러졌는데 점액질의 양이 증가되어 염색성이 더욱 진해졌다. 산성점액질의 회복 경향이 현저한 데 강 sulfomucin을 분비하는 점액샘파리가 증가하는 반면 sialomucin을 분비하는 점액샘파리의 수는 줄어든 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 gramoxone과 비타민 C를 함께 섭취시킨 흰쥐의 십이지장 점액질은 gramoxone 단독 처리군에 비해 중성점액질과 산성점액질이 다시 증가하고 감소되었던 강 sulfomucin과 중성점액질을 분비하는 술잔세포가 다시 증가한다는 연구 보고(19)와 일치한다.

녹차를 투여한 실험군들에서 나타나는 점액질의 회복 경향을 비교해 보면 NDMAGT군보다 GTNDMA군에서 더 많은 회복을 보였으며 GTGTNDMA군에서는 대조군과 거의 유사한 수준으로 회복되었는데, 이는 NDMA 독성에 대한 녹차의 완화 효과가 녹차를 투여하는 시기와 그 양에 따라 달라짐을 나타내며 녹차에는 NDMA 독성 발현 억제 물질뿐만 아니라 독성 예방 물질이 있음을 보여준다.

요 약

흰쥐의 혀침샘인 혀 *von Ebner*샘과 혀 점액샘의 점액질에 영향을 미치는 *N*-nitrosodimethylamine(NDMA)의 독성에 대한 녹차의 완화 효과를 조사하기 위해 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 대조군, NDMA 1주 투여군(NDMA군), NDMA 1주 투여 후 녹차 1주 투여군(NDMAGT군), 녹차와 NDMA 1주 투여군(GTNDMA군) 및 녹차 1주 사육 후 녹차와 NDMA 투여군(GTGTNDMA군)으로 나누어 점액질의 조직화학적 성상을 PAS 반응, AB pH 2.5 염색, AB pH 2.5-PAS 염색, AF pH 1.7-AB pH 2.5 염색 및 HID-AB pH 2.5 염색법으로 관찰하였다. NDMA군에서 혀 *von Ebner*샘의 형태적인 주된 변화는 장액샘파리의 위축 및 파괴, 장액세포의 세포질 과립의 감소 및 소실, 세포질의 공포변성 그리고 도관상피세포의 점액화였으며 혀 점액샘의 주된 형태적 변화는 점액샘파리의 확장, 융합, 파괴 및 점액세포의 세포질의 과립 소실 및 공포변성, 도관상피의 점액화였다. NDMAGT군에서는 회복되는 경향이 나타났고 GTNDMA군에 비해 GTGTNDMA군에서 대조군으로 현저히 회복되었음이 관찰되었다. 혀 *von Ebner*샘의 중성점액질 양은 대조군에 비해 NDMA군에서 감소되었으나 NDMAGT군, GTNDMA군에서 회복되는 경향을 나타냈으며 GTGTNDMA군에서는 대조군에 비해 중성점액질의 염색성이 더 강했다. NDMA군에서 혀 점액샘의 중성점액질과 산성점액질의 양은 대조군에 비해 감소하였는데, 산성점액질 중 강 sulfomucin을 분비하는 점액샘파리는 대조군에 비해 감소하고

non-sulfomucin(sialomucin)을 분비하는 점액샘파리는 증가하는 경향을 나타내었다. 녹차를 투여한 모든 실험군들에서는 회복되는 경향이 나타났는데 NDMAGT군보다 GTNDMA군에서 더 많은 회복을 보였으며, GTGTNDMA군에서는 대조군과 거의 유사한 수준으로의 회복이 관찰되었다.

문 헌

- Pitot HC, Barsness L, Goldsworthy T. 1978. Biochemical characterization of stages of hepatocarcinogenesis after a single dose of diethylnitrosamine. *Nature* 271: 456-458.
- Shin JH, Chung MJ, Sung NJ. 2005. Occurrence of *N*-nitrosodimethylamine in South Korean and imported alcoholic beverages. *Food Addit Contam* 22: 1083-1086.
- Rowland IR, Grasso P. 1975. Degradation of *N*-nitrosamines by intestinal bacteria. *Appl Microbiol* 29: 7-12.
- Gough TA, Webb KS, Pringuer MA, Wood BJ. 1977. A comparison of various mass spectrometric and a chemiluminescent method for the estimation of volatile nitrosamines. *J Agric Food Chem* 25: 663-667.
- Fan TY, Goff U, Song L, Fine DH. 1977. *N*-nitrosodimethylamine in cosmetics, lotions and shampoos. *Food Cosmet Toxicol* 15: 423-430.
- Fan TY, Fine DL. 1978. Formation of *N*-nitrosodimethylamine in the injection port of a gas chromatograph: an artifact in nitrosamine analysis. *J Agric Food Chem* 26: 1471-1472.
- Mackown CT, Douglass B, Djordjevic MV, Bush LP. 1988. Tobacco-specific *N*-nitrosamines: formation during processing of midrib and lamina fines. *J Agric Food Chem* 36: 1031-1035.
- Hoffmann D, Rivenson A, Abbi R, Wynder EL. 1993. A study of tobacco carcinogenesis. Effect of the fat content of the diet on the carcinogenic activity of 4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in F344 rats. *Cancer Res* 53: 2758-2761.
- Jorquera R, Catonguay A, Schuller HM. 1994. DNA single-strand breaks and toxicity induced by 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone or *N*-nitrosodimethylamine in hamster and rat liver. *Carcinogenesis* 15: 389-394.
- Liteplo RG, Meek ME. 2001. *N*-nitrosodimethylamine: Hazard characterization and exposure-response analysis. *Environ Carcino Ecotox Rev* 19: 281-304.
- Knekt P, Jarvinen R, Dich J, Hakulinen T. 1999. Risk of colorectal and other gastro-intestinal cancers after exposure to nitrate, nitrite and *N*-nitroso compounds: a follow-up study. *Int J Cancer* 80: 852-856.
- Miller SL, Branoff S, Nazaroff WW. 1998. Exposure to toxic air contaminants in environmental tobacco smoke: an assessment for California based on personal monitoring data. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 8: 287-311.
- Bieaudet H, Mavelle T, Debry G. 1994. Mean daily intake of *N*-nitrosodimethylamine from foods and beverages in France in 1987-1992. *Food Chem Toxicol* 32: 417-421.
- Roszczenko A, Jablonski J, Moniuszko-Jakoniuk J. 1996. Effect of *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) on activity of selected enzymes in blood serum of the rat. *Med Pr* 47: 49-53.
- Park SH. 1996. Histochemistry for effects of *N*-nitrosodimethylamine on glycoconjugates in the duodenal and jejunal mucosae of the rat. *PhD Dissertation*. Kosin University, Busan, Korea.

16. Jo UB, Jo GJ. 1999. Plectin histochemistry for effects of N-nitrosodimethylamine on glycoconjugates in the rat lingual glands. *J Life Science* 8: 509-519.
17. Luo M, Kannar ML, Wahiqvist RC, O'Brien. 1997. Inhibition of LDL oxidation by green tea extract. *Lancet* 349: 360-361.
18. Yeo SG, Ahn CW, Kim IS, Park YB, Park YH, Kim SB. 1995. Antimicrobial effect of tea extracts from green tea oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 293-298.
19. Jo UB, Kim SR, Choi BT. 1994. Alleviating effects of vitamin C on the gramoxone toxicity in the mucosubstances of rat duodenum. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 387-395.
20. Skrzypczak-Jankun E, Zhou K, Jankun J. 2003. Inhibition of lipoxygenase by (-)-epigallocatechin gallate: X-ray analysis at 2.1 Å reveals degradation of EGCG and shows soybean LOX-3 complex with EGC instead. *Int J Mol Med* 12: 415-422.
21. Tosetti F, Ferrari N, De Flora S, Albiñi A. 2002. 'Angioprevention': angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents. *FASEB J* 16: 2-14.
22. Song XZ, Bi ZG, Xu AE. 2006. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits the expression of nitric oxide synthase and generation of nitric oxide induced by ultraviolet B in HaCaT cells. *Chin Med J (Engl)* 119: 282-287.
23. Rasoolijazi H, Joghataje MT, Roghani M, Nobakht M. 2007. The beneficial effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate in an experimental model of Alzheimer's disease in rat: a behavioral analysis. *Iran Biomed J* 10: 99-104.
24. Jo GJ. 1997. The alleviating effects of green tea on paraquat toxicity to glycoconjugates in the intestine of the rat. *MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea.
25. Sai K, Kai S, Umemura T, Tanimura A, Hasegawa R, Inoue T, Kurokawa Y. 1998. Protective effects of green tea on hepatotoxicity, oxidative DNA damage and cell proliferation in the rat liver induced by repeated oral administration of 2-nitropropane. *Food Chem Toxicol* 36: 1043-1051.
26. Hayashi E, Hayashi M, Yamazoe H. 1990. Pharmacological action of tea extract on the central nervous system in mice. *Oyo Yakuri* 40: 351-356.
27. Zheng T, Holford T, Chen Y, Jiang P, Zhang B, Boyle P. 1997. Risk of tongue cancer associated with tobacco smoking and alcohol consumption: a case-control study. *Oral Oncol* 33: 82-85.
28. Tubiana M. 1991. Trends in primary and secondary prevention. *Cancer Detect Prev* 15: 1-5.
29. Jo UB. 1977. The effect of organophosphorus pesticides on the mucosubstances of the rat lingual glands. *J of Busan Med College* 17: 23-25.
30. Park SW. 1981. A comparative histochemical study on the effect of some pesticides on the properties of the mucosubstances in the rat lingual glands. *PhD Dissertation*. Pusan National University, Busan, Korea.
31. Yoon MI. 1984. Histochemical studies on the mucosubstances produced by salivary gland tumors. *PhD Dissertation*. Pusan National University, Busan, Korea.
32. Adkins KF, Moule AJ. 1973. Drug-induced xerostomia: cellular changes produced in parotid acinar cells by azathioprine. *Newzeal J Dent* 69: 112-120.
33. Atanasova-Goraniva VK, Dimova PI, Pevicharova GT. 1997. Effect of food products on endogenous generation of N-nitrosamines on rat. *Br J Nutr* 78: 335-345.
34. Sheahan DG, Jervis HR. 1976. Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances. *Am J Anat* 146: 103-117.
35. Spicer SS, Meyer DB. 1960. Histochemical differentiation of acid mucopolysaccharides by means of combined aldehyde fuchsin-alcian blue staining. *Am J Clin Pathol* 33: 454-460.
36. Lee JE. 1998. Histochemical study on the effect of smoking on glycoconjugates of rat lingual salivary glands. *MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea.
37. Fillipe MI, Branfoot AC. 1974. Abnormal patterns of mucous secretion in apparently normal mucosa of large intestine with carcinoma. *Cancer* 34: 282-290.

(2008년 9월 12일 접수; 2008년 11월 25일 채택)