

SD 랫드에서 흑명나방 저항성 유전자 변형 낙동벼의 13주 경구 반복투여 독성에 관한 연구

서동석·권민·성하정·박철범*

호서대학교 안전성평가센터

(2011년 4월 15일 접수, 2011년 4월 29일 수리)

Thirteen-Week Repeated Oral Toxicity Study of Leaf Folder (*Cnaphalocrocis medinalis*) Resistant Rice (Nakdongbyeb) in Sprague-Dawley Rats

Dong-Seok Seo, Min Kwon, Ha-Jung Sung and Cheol-Beom Park*

Hoseo Toxicological Research Center, 165 Sechul-ri, Baebang-eup, Asan-city, Chungnam 336-795, Korea

Abstract

We investigated the systemic effects of leaf folder (*Cnaphalocrocis medinalis*) resistant rice (transgenic rice, Nakdongbyeb) in Sprague-Dawley rats for 13 weeks. Leaf folder resistant rice was added to the diet at percentage levels of 0, 5 and 20 percentage/feeder and was administered for 13 weeks. The results did not show any changes in food and water intake. There were also no biologically significant changes in both body and organ weights, hematological and blood biochemical parameters, autopsy and histopathology between the treatment and control groups. Based on these results, no observed adverse effect level (NOAEL) of transgenic rice was considered to be more than 10,000 mg/kg b.w. under the conditions of the present study.

Key words Leaf folder resistant rice, Repeated oral toxicity, Diet, NOAEL

서론

유전자 재조합 식품(Genetically Modified Organism : GMO)이란 일반적으로 생산량 증대 또는 유통·가공상의 편의를 위하여, 유전공학기술을 이용, 기존의 육종방법으로는 나타날 수 없는 형질이나 유전자를 지니도록 개발된 식품을 말한다. 인구가 증가함에 따라 식량 수요도 계속 증가하여 왔고, 지금까지는 식량증산을 위하여 경지면적을 확대하고, 화학비료와 농약을 사용하여 통일벼와 같은 다수확 품종을 재배하는 방법 등을 이용해 왔다. 그러나 이용할 수 있는 농지면적은 한정되어 있으며, 화학비료나 농약 사용은 잔류 농약 등에 의한 안전성 문제도 있어 이러한 방법에 의한 식량증산에는 한계

를 보이게 되었다. 또한, 소비자의 식품기호에 대한 욕구도 증가하여, 식량자원의 품종개량에 대한 중요성과 필요성이 증가하게 되었다. 이에 여러 학자들은 새로운 품종을 효율적으로 개발하기 위하여 유전자 재조합 기술을 이용하게 되었다. 1960년대에 들어 유전자 재조합 식품이 서서히 시장에 나타나기 시작하였고, 1967년에는 포테이토칩(potato chip)을 만드는데 사용하기 위해 Lenape potato라 불리는 새로운 종의 감자를 육종하였다. 비록 이 감자에서 solanine이라는 독소가 검출되어 시장 유통이 중지되었지만, 새로운 품종의 감자에서 나온 독소는 식물이나 혹은 동물의 유전자 변형으로 인해 예기치 않는 영향을 일으킬 수 있다는 사실을 보여주었다(McMilla and Thompson, 1979).

1980년대에 들어서 미국, 독일, 벨기에의 학자들은 병원체 세균과 *Agrobacterium tumefaciens*를 이용하여 전이 식물

*연락처 : Tel. +82-41-540-9676, Fax. +82-41-540-9839
E-mail: cbpark@hoseo.edu

(transgenic plant)을 만드는 방법을 발견했고(Fraley *et al.*, 1983), 세균을 이용하여 식물에 새로운 유전자를 주입시켰다(Bevan *et al.*, 1983; Herrer-Estrella *et al.*, 1984). 1983년부터 1989년까지는 DNA 재조합 기술이 보편화되어 가는 시점이다. 1990년대에 들어서는 유전자 재조합 식품들이 일반대중에 의해 처음으로 이용되어지는 시점으로 American Medical Association(AMA)와 National Institute of Health(NIH)가 Recombinant Bovine Somatotropin(rBST)를 처치한 젖소의 우유가 처치하지 않은 군과 마찬가지로 안전하다고 각각 독립적으로 결론지었으며, 1993년에 FDA는 젖소의 rBST 처치를 승인하였다. 이렇게 나날이 발전되어 가는 genetic modification(GM)은 농장, 소비자, 생활 환경 등에 많은 도움을 주고 있다. 식량생산의 증대, 식품의 기호성 증가, 영양학적 품질 향상, 단백질품질 향상, 우유의 양적·질적 향상, 유용한 백신이나 약물제조, 질병이나 스트레스, 해충, 잡초나 바이러스 등으로부터 생물학적인 방어효과, 환경보호 및 부와 직업의 창출 등 GM에 대한 이익은 이루 말할 수 없다(Clinton, 1998; Wilmut *et al.*, 1997; Hercberg *et al.*, 1998; De Lumen *et al.*, 1999; Ferber, 1999). 하지만 최근에 들어서는 이러한 유전자 재조합 식품의 증가로 인해 이 식품에 대한 안전성에 대한 논란이 끊이지 않고 있다. 식품의 영양학적 품질의 변질, 항생제 내성유발, GMO 식품의 잠재적인 독성유발 및 알러지 유발, 다른 생물체의 의도하지 않은 유전자의 전이, 새로운 바이러스나 독소생성, 종교적·윤리적·문화적 우려, GMO 식품의 표시부족에 따른 우려 등 많은 단점이 대두되고 있다(Young *et al.*, 1995; Nordlee *et al.*, 1996; Hoef *et al.*, 1998; Koenig, 1999). 이에 1996년 FAO/WHO에서는 소비자 건강보호를 위해 기술발전을 저해하지 않는 범위에서 정부의 강력한 식품규제가 필요하며, 실질적 동등성에 근거하여 안전성을 평가하고(Millstone *et al.*, 1999; Novakand Haslberger, 2000; Martens *et al.*, 2000), 또한 알러지 유발성이 있는 생물체에서 유전자를 취한 경우 도입된 유전자로 인한 알러지가 발생하지 않는 것이 입증되어야 한다고 권고하고 있다. 우리나라는 농림부, 보건복지부, 과학기술부, 환경부 및 산업자원부 등에서 GMO에 대한 관련규정 협의 및 안전성에 관한 법적 관리를 추진 중에 있고 이에 대한 대처 방안으로 유전자조합 생물체의 개발 또는 안전성 평가 및 규제 시 반드시 과학적인 근거를 기초로 실시되어야 한다고 주장하고 있다. 그리고, 신규로 개발된 GMO가 기존 식품과 비교하여 성분상 차이가 없다면 동일하게 취급되어 안전하다고 보는 “실질적 동등성(Substantial equivalence, 1993 OECD)” 평가개념 도입이 바람직하며 GMO의 안전성에 대하여 전 국

민에 대한 적극적인 홍보도 실시하고 있는 실정이다. 이외에도 Codex, OECD, UNEP 등의 단체에서 GMO의 안전성의 논란에 대해 협의가 진행 중이지만 아직까지 이렇다 할 결론이 나지 않은 실정이다. 특히, 유전자 재조합 식품에 대한 장기간 노출시의 안전성 문제에 대한 연구결과는 상당히 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 흑명나방 저항성 유전자 변형 낙동벼를 Sprague-Dawley 랫드에 90일간 섭취시켜 GMO식품의 안전성을 평가하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

시험물질

시험물질은 흑명나방 저항성 유전자 변형 낙동벼로서 농업생명과학연구원으로부터 제공받은 것을 분석한 다음 (주)퓨리나코리아 쥐사료에 5%와 20%가 되도록 혼합하였다. 대조물질로는 제공받은 일반 낙동벼를 같은 방법으로 20% 되도록 혼합하여 사용하였다.

시험동물 및 사육환경

6주령의 암수 특정병원체 부재 Sprague-Dawley 랫드 각 40마리를 (주)오리엔트바이오로부터 구입하여 1주일간 동물사육실 환경에 적응시켜 시험에 사용하였다. 동물사육실은 온도 $20\pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm 10\%$, 환기횟수 10~15회/시간, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시), 조도 200~300 Lux로 유지하였다. 실험동물은 랫드용 와이어 케이지(500×300×200 mm, 대종기기 제작)에 2마리씩 넣어 사육하였고, 음수와 사료는 자유로이 급여하였다.

군구성

시험동물은 체중을 기초로 해서 군별 체중편차가 최소화 되도록 하여, 대조군, Non-GMO벼 투여군, GMO벼 투여군 1(5%), GMO벼 투여군2(20%)에 10마리씩 배치하였다. 시험물질이 혼합된 사료를 90일간 투여하였다.

임상증상 관찰, 체중 및 사료섭취량 측정

모든 시험동물은 매일 1회 이상 임상증상을 관찰하였고, 체중은 입수시, 군분리시 및 시험물질 사료급여 후 주 1회씩 측정하였다. 사료섭취량은 시험물질 사료급여 후 주 1회씩 측정하였다.

뇨 검사

뇨검사는 시험종료 마지막 주에 Bayer Diagnostics Multistix 10SG(Not. 5J06C, U.S.A.) REF 2300(03536597) 스트립과 뇨 측정기(Clinitek 500, U.S.A.)를 이용하여 specific gravity, pH, leukocyte, nitrite, protein, glucose, ketone, urobilinogen, bilirubin, blood를 측정하였다.

혈액학적 검사

모든 실험동물에 대하여 부검일에 12시간 이상 절식시킨 후 에테르로 마취하여 복대정맥으로부터 전채혈해서 얻은 혈액 중 약 3 ml의 혈액을 7.5% EDTA가 0.072 ml 함유된 Vacutainer에 분주하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈색소(HGB), 헤마토크리트(HCT), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH) 및 평균적혈구혈색소농도(MCHC)를 혈구자동측정기(Hemavet 850, USA)로 측정하였으며, 혈액응고시간(PT, APTT)의 측정은 채혈 후 3.2% sodium citrate가 0.2 ml 함유된 vacutainer에 취하여 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 얻은 혈장을 자동혈액응고시간 측정기(Coagrex-100s, Japan)를 이용하여 측정하였다.

혈액생화학적 검사

전 채혈한 혈액 중 혈액학적 검사에 사용한 3 ml을 제외한 나머지의 혈액을 실온에 30분 이상 방치하여 응고시킨 다음, 원심분리(3,000rpm X15min)해서 얻은 혈청으로부터 총단백질(TP), 알부민(ALB), A/G, 알칼라인 포스파타제(ALP), 아스파테이트 아미노기전이효소(AST), 알라닌 아미노기전이효소(ALT), 크레아티닌(CREA), 혈액요소질소(BUN), 총콜레스테롤(CHO), 트리글리세라이드(TG), 혈당(GLU), 칼슘(Ca) 및 인(P)를 자동분석기(Hitachi, JAPAN)를 이용하여

측정하였으며, 나트륨(Na), 칼륨(K), 염소(Cl)이온의 농도는 전해질 분석기(Chiron 644, US)를 이용하여 측정하였다.

부검, 장기중량 및 병리조직학적 검사

시험종료시의 모든 생존동물에 대하여 에테르로 마취시켜 방혈 치사한 다음 해부하여 육안검사를 실시하였다. 또한 간, 신장, 비장, 부신, 고환, 뇌, 뇌하수체, 심장, 흉선 및 부고환을 적출하여 중량을 측정하였고, 그 외에 위, 장관, 대퇴골 및 안구 등을 적출한 후 적출한 모든 장기를 10% 중성포르말린용액에 고정시켰다. 10일 이상 충분히 고정시킨 다음 모든 장기 조직은 파라핀 포매기로 포매하여 마이크로톰으로 3~5µm 두께의 조직절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색(H&E stain)을 하여 광학현미경으로 병리조직학적 관찰을 하였다.

통계처리

체중, 혈액학적검사, 혈액생화학적검사 및 장기중량의 자료에 대해서는 분산의 동질성을 비교하기 위한 Levene's test를 실시하였고, 분산의 동질성이 인정된 경우 one way ANOVA test를 실시하여 유의성이 관찰되면 사후검정으로 Scheffe 검정을 실시하였다. Levene's test 결과 분산이 이질적이면 사후검정으로 Dunnett 검정을 실시하였다. 모든 통계분석은 SPSS통계 프로그램(Ver 10.0)을 이용하여 수행하였다.

결과 및 고찰

시험기간 동안 암·수 모든 시험군에서 어떠한 임상증상이나 반사 및 폐사 동물은 관찰되지 않았다. 시험기간 동안 암·수 모든 시험군에서 유의성 있는 체중 변화는 관찰되지 않았다. 시험군당 사료 섭취량은 암·수 모든 시험군에서 시험기간

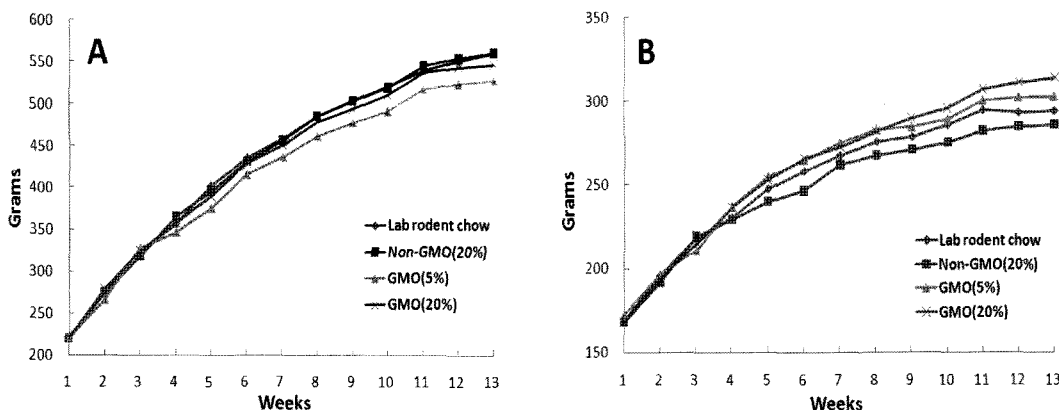


Fig. 1. Body weight changes of male (A) and female (B) rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks.

동안 특기할 만한 변화는 관찰되지 않았다. 모든 동물을 시험 종료시에 노 검사를 실시한 결과 모든 시험군에서 시험물질 투여로 인한 변화로 판단되는 소견은 관찰되지 않았다.

혈액학적 검사에 있어서 수컷의 경우 GMO 20% 투여군의 망상적혈구수에서만 Lab rodent chow 투여군에 비해 유의성 있는 감소를 보였고, 암컷의 경우에는 GMO 5%와 20% 투여군의 망상적혈구수가 Lab rodent chow 투여군과 Non-GMO 20% 투여군에 비해 유의성 있는 증가를 보였다. 망상적혈구의 감소는 빈혈시에 나타나는 지표로 재생불량성 빈혈이나 산화적 손상을 일으키는 외인성 화학물질에 의해 그 수가 감소한다고 한다(Bradberry, 2003; Percy et al, 2005). 수컷에서의 망상적혈구수의 감소는 빈혈과 관련되는 다른 지표인 적혈구수, 헤모글로빈, 헤마토크리트 등의 다른 수치에서 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았기에 망상적혈구수의 감소는 시험물질투여와 관련 없는 우발적 결과로 생각된다.

암컷에서는 투여군에서 모두 망상적혈구의 증가가 관찰되었는데, 용혈성 빈혈을 의미하는 다른 지표들 적혈구수, 헤모글로빈, 헤마토크리트 등에서 변화가 관찰되지 않았으므로 이 또한 시험물질 섭취와 무관한 것으로 사료된다.

혈액생화학적 검사 결과 암컷 GMO 20% 투여군의 total protein치는 rodent chow 투여군에 비해 유의성 있는 감소를 보였으나 Non-GMO 20% 투여군과는 유의성있는 변화를 보이지 않았으며, 배경수치(6.3~7.5 g/dL) 내의 변화로써 시험물질 섭취와 관련된 독성변화로 판단되지 않는다. GMO 5% 투여군, GMO 20% 투여군 및 Non-GMO 20% 투여군의 암컷 칼슘 이온치는 rodent chow 투여군에 비해 통계학적으로 유의성있는 감소를 보였으나, 암·수 상관성이 없고, GMO 20% 투여군과 Non-GMO 20% 투여군과는 유의성있는 변화를 보이지 않았으며, 배경수치(9.6~11.0 mg/dL)내의 변화로써 이 또한 시험물질 섭취와 관련된 독성변화로 판단되

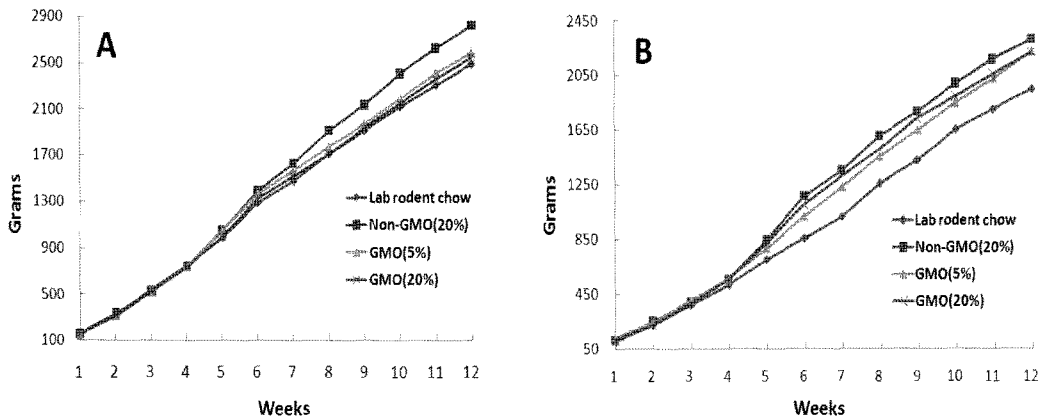


Fig. 2. Accumulative feed consumption of male (A) and female (B) rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks.

Table 1. Mortality and clinical signs of SD rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks

| Sex | Test materials | Diet Composition (%) | Weeks | | | | | | | | | | | | | Mor. | |
|--------|-----------------|----------------------|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------------------|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | | |
| Male | Lab rodent chow | 0 | 0/10 ^a | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 ^b |
| | Non-GMO | 20 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | GMO | 5 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | GMO | 20 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| Female | Lab rodent chow | 0 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | Non-GMO | 20 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | GMO | 5 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | GMO | 20 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |

^a Number of animals with clinical sings/number in group

^b Number of dead animals/number in group

Table 2. Urinalysis of SD rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks

| Item | Sex Group (Diet com.) | Male | | | | Female | | | |
|------------------|-----------------------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| | | G1 (0%) | G2 (20%) | G3 (5%) | G4 (20%) | G1 (0%) | G2 (20%) | G3 (5%) | G4 (20%) |
| Leukocytes | Negative | 2 | 0 | 4 | 1 | 6 | 8 | 7 | 7 |
| | 15 Leu/uL | 6 | 7 | 5 | 9 | 4 | 2 | 1 | 2 |
| | 70 Leu/uL | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | 125 Leu/uL | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Nitrite | Negative | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Urobilinogen | 0.1 mg/dL | 8 | 10 | 10 | 9 | 9 | 10 | 9 | 8 |
| | 0.2 mg/dL | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| Protein | Negative | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 4 | 2 |
| | 30<mg/dL | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| | 30 mg/dL | 3 | 3 | 4 | 2 | 3 | 4 | 2 | 4 |
| | 100 mg/dL | 7 | 7 | 5 | 6 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| | 300 mg/dL | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| pH | 6.0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| | 7.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 0 |
| | 7.5 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| | 8.0 | 1 | 1 | 4 | 1 | 1 | 0 | 6 | 0 |
| | 8.5 | 7 | 7 | 5 | 7 | 5 | 6 | 2 | 8 |
| | 9.0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Blood | Negative | 8 | 8 | 6 | 9 | 9 | 10 | 7 | 9 |
| | 10 Ery/uL | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 | 2 | 1 |
| | 25 Ery/uL | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | 80 Ery/uL | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Specific gravity | 1.010 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | 1.015 | 0 | 0 | 3 | 1 | 4 | 2 | 1 | 3 |
| | 1.020 | 6 | 3 | 2 | 4 | 3 | 2 | 5 | 4 |
| | 1.025 | 3 | 4 | 4 | 3 | 2 | 2 | 4 | 2 |
| | 1.030 | 0 | 3 | 1 | 2 | 1 | 3 | 0 | 0 |
| Ketone | Negative | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 7 | 4 |
| | 5 mmol/L | 2 | 2 | 3 | 0 | 6 | 6 | 3 | 6 |
| | 15 mmol/L | 8 | 8 | 7 | 9 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 40 mmol/L | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Bilirubin | Negative | 5 | 2 | 8 | 3 | 4 | 7 | 8 | 5 |
| | small | 4 | 8 | 5 | 7 | 6 | 3 | 2 | 5 |
| | moderate | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Glucose | Negative | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |

지 않는다. 암·수 GMO 20% 투여군의 염소 이온치는 Lab rodent chow 투여군과 Non-GMO 20% 투여군에 비해 통계학적으로 유의성 있는 변화를 보였고, 수컷 GMO 5% 투여군은 Lab rodent chow 투여군에 비해 통계학적으로 유의성 있는 감소를 보였으나, 수컷에서는 감소, 암컷에서는 증가되

는 변화를 보여 암·수 상관성이 없다고 판단되며, 칼슘, 나트륨, 칼륨에서는 유의성있는 변화가 관찰되지 않아 전해질 불균형이 초래됐다고 판단되지 않는다. 염소 이온치의 변화와 관련된 질환 또한 관찰되지 않아 시험물질 섭취와 관련된 독성변화로 판단되지 않으며, 다른 버를 섭취한 90일 경구 반복

Table 3. Hematological values of SD rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks

| Sex | Item | Unit | Diet composition(%) | | | |
|--------|------|----------------------------------|---------------------|-------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | G1 (0%) | G2 (20%) | G3 (5%) | G4 (20%) |
| Male | WBC | 10 ³ /mm ³ | 7.67±2.28 | 8.07±2.09 | 7.98±2.26 | 5.62±1.69 |
| | NE | % | 37.28±3.49 | 38.83±4.61 | 41.75±6.01 | 41.51±6.14 |
| | LY | % | 52.32±3.96 | 48.45±5.83 | 46.44±8.04 | 43.54±6.41 |
| | MO | % | 9.92±1.71 | 11.87±3.05 | 11.32±4.64 | 14.35±4.21 |
| | EO | % | 0.44±0.28 | 0.37±0.21 | 0.45±0.23 | 0.57±0.39 |
| | BA | % | 0.06±0.06 | 0.03±0.04 | 0.04±0.04 | 0.04±0.04 |
| | RBC | 10 ⁶ /mm ³ | 7.82±1.00 | 7.82±0.53 | 8.01±0.65 | 8.37±0.84 |
| | HGB | g/dL | 16.52±0.84 | 16.76±1.00 | 16.41±0.98 | 17.08±0.64 |
| | HCT | % | 41.64±3.73 | 42.66±2.72 | 42.08±4.00 | 45.75±4.14 |
| | MCV | fL | 53.33±3.15 | 54.06±2.52 | 52.56±2.53 | 54.81±3.00 |
| | MCH | pg | 21.23±1.30 | 21.20±0.97 | 20.61±2.29 | 20.59±2.08 |
| | MCHC | g/dL | 39.83±2.43 | 39.27±1.90 | 39.19±3.41 | 37.54±2.75 |
| | RET. | % | 0.93±0.22 | 0.91±0.23 | 0.72±0.15 | 0.69±0.10 ^a |
| | PT | sec | 20.68±4.00 | 19.92±1.84 | 18.96±1.53 | 19.77±2.24 |
| APTT | sec | 23.70±2.97 | 22.74±2.00 | 22.77±1.82 | 23.91±3.51 | |
| Female | WBC | 10 ³ /mm ³ | 7.67±2.28 | 8.07±2.09 | 7.98±2.26 | 5.62±1.69 |
| | NE | % | 37.28±3.49 | 38.83±4.61 | 41.75±6.01 | 41.51±6.14 |
| | LY | % | 52.32±3.96 | 48.45±5.83 | 46.44±8.04 | 43.54±6.41 |
| | MO | % | 9.92±1.71 | 11.87±3.05 | 11.32±4.64 | 14.35±4.21 |
| | EO | % | 0.44±0.28 | 0.37±0.21 | 0.45±0.23 | 0.57±0.39 |
| | BA | % | 0.06±0.06 | 0.03±0.04 | 0.04±0.04 | 0.04±0.04 |
| | RBC | 10 ⁶ /mm ³ | 7.82±1.00 | 7.82±0.53 | 8.01±0.65 | 8.37±0.84 |
| | HGB | g/dL | 16.52±0.84 | 16.76±1.00 | 16.41±0.98 | 17.08±0.64 |
| | HCT | % | 41.64±3.73 | 42.66±2.72 | 42.08±4.00 | 45.75±4.14 |
| | MCV | fL | 53.33±3.15 | 54.06±2.52 | 52.56±2.53 | 54.81±3.00 |
| | MCH | pg | 21.23±1.30 | 21.20±0.97 | 20.61±2.29 | 20.59±2.08 |
| | MCHC | g/dL | 39.83±2.43 | 39.27±1.90 | 39.19±3.41 | 37.54±2.75 |
| | RET. | % | 0.93±0.22 | 0.91±0.23 | 0.72±0.15 ^{aa,b} | 0.69±0.10 ^{aa,b} |
| | PT | sec | 20.68±4.00 | 19.92±1.84 | 18.96±1.53 | 19.77±2.24 |
| APTT | sec | 23.70±2.97 | 22.74±2.00 | 22.77±1.82 | 23.91±3.51 | |

Values are the mean ± S.D. of 10 rats

Significant differences as compared with group 1 : ^aP < 0.05, ^{aa}P < 0.01

Significant differences as compared with group 2 : ^bP < 0.05

WBC : white blood cells, NE : neutrophils, LY : lymphocytes, MO : monocytes, EO : eosinophils, BA : basophils, RBC : red blood cells, HGB : hemoglobin, HCT : hematocrit, MCV : mean corpuscular volume, MCH : mean corpuscular hemoglobin, MCHC : mean corpuscular hemoglobin concentration, Ret. : reticulocytes, PT : prothrombin time, APTT : activated partial thromboplastin time

투여 독성시험에서도 단백질이나 나트륨 이온 등의 변화가 관찰되었으나 배경 수치의 변동 내에서 변화가 있었다는 보고가 있다(Schroder *et al*, 2006).

장기중량 측정 결과 투여군간 유의성 있는 변화를 보인 장기는 없었다. 부검시 암·수 모든 동물의 주요장기에 대한 육

안적 검사를 실시한 결과 시험물질 섭취와 관련된 이상 소견은 관찰되지 않았다. 부검 후 적출한 장기에 대한 조직병리학 적 검사 결과, 시험물질섭취와 관련된 병리조직학적 소견은 인정되지 않았다. 다른 연구에서도 GMO 벼를 섭취한 랫드에서 조직병리학적인 변동이 없다는 유사한 결과가 보고되었

Table 4. Biochemical values of SD rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks

| Sex | Item | Unit | Diet composition (%) | | | |
|--------|--------|------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| | | | G1 (0%) | G2 (20%) | G3 (5%) | G4 (20%) |
| Male | TP | g/dL | 6.03±0.27 | 6.00±0.22 | 6.17±0.28 | 6.07±0.23 |
| | ALB | g/dL | 2.36±0.17 | 2.32±0.09 | 2.35±0.07 | 2.37±0.09 |
| | A/G | - | 0.58±0.21 | 0.61±0.03 | 0.60±0.00 | 0.66±0.05 |
| | ALP | IU/L | 204.2±45.50 | 204.9±33.07 | 212.9±34.92 | 164.2±38.06 |
| | AST | IU/L | 106.5±27.94 | 99.6±19.25 | 96.8±17.09 | 100.9±15.00 |
| | ALT | IU/L | 39.4±5.70 | 39.3±6.90 | 40.4±10.49 | 37.1±7.85 |
| | CREA | mg/dL | 0.57±0.08 | 0.55±0.07 | 0.57±0.05 | 0.55±0.05 |
| | BUN | mg/dL | 14.86±2.19 | 15.16±1.97 | 17.14±2.91 | 17.06±2.41 |
| | CHO | mg/dL | 66.3±15.04 | 74.9±16.26 | 74.7±11.41 | 70.7±8.22 |
| | TG | mg/dL | 83.30±49.05 | 85.10±32.82 | 90.30±28.80 | 63.40±16.73 |
| | GLU | mg/dL | 165.4±32.22 | 169.0±18.46 | 152.9±54.02 | 169.0±11.92 |
| | Ca | mg/dL | 9.99±0.40 | 9.95±0.41 | 10.05±0.35 | 9.89±0.23 |
| | P | mg/dL | 6.18±0.92 | 6.25±0.60 | 5.94±0.47 | 6.13±0.48 |
| | Na | mmol/L | 144.7±1.25 | 143.4±1.84 | 144.4±1.43 | 144.7±1.06 |
| | K | mmol/L | 4.24±0.82 | 4.25±0.26 | 4.23±0.25 | 4.47±0.42 |
| Cl | mmol/L | 121.3±5.85 | 117.3±3.02 | 113.9±3.57 ^a | 111.9±1.37 ^{aa,bb} | |
| Female | TP | g/dL | 7.29±0.27 | 6.88±0.36 | 6.87±0.42 | 6.80±0.33 ^a |
| | ALB | g/dL | 3.24±0.26 | 3.05±0.22 | 3.09±0.19 | 2.91±0.36 |
| | A/G | - | 0.79±0.07 | 0.80±0.07 | 0.81±0.07 | 0.76±0.11 |
| | ALP | IU/L | 111.3±47.65 | 98.6±22.41 | 83.9±23.65 | 97.2±23.21 |
| | AST | IU/L | 144.9±131.24 | 92.5±25.00 | 88.2±16.07 | 111.5±75.76 |
| | ALT | IU/L | 52.8±49.53 | 32.6±20.14 | 32.0±12.96 | 34.9±26.26 |
| | CREA | mg/dL | 0.65±0.08 | 0.71±0.07 | 0.75±0.19 | 0.62±0.04 |
| | BUN | mg/dL | 17.63±2.67 | 17.34±3.44 | 19.64±4.83 | 16.17±1.79 |
| | CHO | mg/dL | 95.4±22.89 | 83.4±16.19 | 91.4±9.25 | 85.1±24.15 |
| | TG | mg/dL | 10.6±6.38 | 9.4±3.72 | 8.7±3.06 | 13.7±15.70 |
| | GLU | mg/dL | 147.2±15.00 | 143.8±16.84 | 142.5±16.12 | 138.3±8.81 |
| | Ca | mg/dL | 10.90±0.18 ^{bb} | 10.17±0.50 ^{aa} | 10.21±0.31 ^{aa} | 10.30±0.32 ^{aa} |
| | P | mg/dL | 5.79±1.59 | 5.67±1.00 | 5.76±0.74 | 5.66±0.93 |
| | Na | mmol/L | 144.8±1.14 | 145.2±1.23 | 145.6±1.71 | 146.5±1.43 |
| | K | mmol/L | 4.14±0.75 | 3.98±0.57 | 4.02±0.36 | 3.94±0.29 |
| Cl | mmol/L | 110.1±2.23 | 113.2±1.55 | 109.4±3.63 | 123.6±5.44 ^{aa,bb} | |

Values are the mean ± S.D. of 10 rats

Significant differences as compared with group 1 : ^aP < 0.05, ^{aa}P < 0.01

Significant differences as compared with group 2 : ^{bb}P < 0.01

TP : total protein, ALB : albumin, A/G : albumin-globulin ratio, ALP : alkaline phosphatase, AST : aspartate aminotransferase, ALT : alanine aminotransferase, CREA : creatinine, BUN : blood urea nitrogen, CHO : total cholesterol, TG : triglyceride, GLU : glucose, Ca : calcium, P : inorganic phosphorus, Na : sodium, K : potassium, Cl : chloride

다(Momma *et al.*, 2000).

이상의 결과로부터 일반 낙동벼(Non-GMO) 20%, 흑명나방 저항성 유전자 변형 낙동벼(GMO) 5%와 20%를 사료에

혼합하여 90일간 자유 공급한 결과, 수컷은 10.86, 2.60 및 9.93 g/kg/day을 각각 섭취하였고, 암컷은 15.54, 3.57 및 14.12 g/kg/day을 섭취하였다. 따라서 본 시험에서 유전자

Table 5. Absolute organ weights of SD rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks

| Sex | Organ | Diet composition (%) | | | |
|--------|-----------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | G1 (0%) | G2 (20%) | G3 (5%) | G4 (20%) |
| Male | Liver | 12.30±1.74 | 13.07±1.52 | 13.40±2.04 | 12.42±1.63 |
| | Kidney | 1.53±0.16 | 1.521±0.13 | 1.50±0.19 | 1.58±0.18 |
| | Spleen | 0.75±0.13 | 0.74±0.28 | 0.73±0.08 | 0.77±0.10 |
| | Adrenal gland | 0.032±0.005 | 0.029±0.006 | 0.028±0.006 | 0.032±0.006 |
| | Testis | 1.73±0.14 | 1.61±0.19 | 1.60±0.17 | 1.75±0.14 |
| | Brain | 2.13±0.07 | 2.10±0.07 | 2.10±0.11 | 2.12±0.07 |
| | Pituitary gland | 0.015±0.002 | 0.014±0.002 | 0.013±0.005 | 0.016±0.003 |
| | Heart | 1.68±0.17 | 1.66±0.17 | 1.72±0.16 | 1.71±0.16 |
| | Thymus | 0.38±0.15 | 0.42±0.09 | 0.37±0.13 | 0.39±0.10 |
| | Epididymis | 0.75±0.09 | 0.73±0.10 | 0.73±0.07 | 0.76±0.08 |
| Female | Liver | 8.10±1.84 | 7.36±0.71 | 6.84±0.69 | 7.25±1.06 |
| | Kidney | 0.91±0.10 | 0.88±0.10 | 0.85±0.10 | 0.98±0.18 |
| | Spleen | 0.52±0.07 | 0.49±0.05 | 0.45±0.06 | 0.49±0.07 |
| | Adrenal gland | 0.035±0.004 | 0.035±0.007 | 0.032±0.006 | 0.034±0.010 |
| | Ovary | 0.058±0.018 | 0.062±0.015 | 0.051±0.011 | 0.063±0.014 |
| | Brain | 2.05±0.09 | 2.04±0.08 | 2.01±0.11 | 1.99±0.11 |
| | Pituitary gland | 0.022±0.005 | 0.018±0.005 | 0.016±0.006 | 0.017±0.005 |
| | Heart | 1.07±0.11 | 1.17±0.45 | 0.92±0.09 | 0.98±0.11 |
| | Thymus | 0.35±0.06 | 0.29±0.06 | 0.31±0.07 | 0.32±0.05 |

Values are the mean ± S.D. (g) of 10 rats

Table 6. Relative organ weights of SD rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks

| Sex | Organ | Diet composition (%) | | | |
|--------|-----------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | G1 (0%) | G2 (20%) | G3 (5%) | G4 (20%) |
| Male | Liver | 2.31±0.46 | 2.37±0.36 | 2.58±0.51 | 2.32±0.47 |
| | Kidney | 0.298±0.05 | 0.28±0.04 | 0.29±0.05 | 0.29±0.05 |
| | Spleen | 0.14±0.03 | 0.13±0.05 | 0.14±0.02 | 0.14±0.03 |
| | Adrenal gland | 0.006±0.001 | 0.005±0.001 | 0.005±0.001 | 0.006±0.001 |
| | Testis | 0.32±0.04 | 0.29±0.06 | 0.31±0.04 | 0.33±0.04 |
| | Brain | 0.40±0.05 | 0.38±0.03 | 0.40±0.04 | 0.39±0.04 |
| | Pituitary gland | 0.003±0.000 | 0.002±0.000 | 0.002±0.001 | 0.003±0.001 |
| | Heart | 0.31±0.05 | 0.30±0.05 | 0.33±0.04 | 0.32±0.05 |
| | Thymus | 0.07±0.02 | 0.08±0.02 | 0.07±0.02 | 0.07±0.02 |
| | Epididymis | 0.14±0.02 | 0.13±0.03 | 0.14±0.02 | 0.14±0.02 |
| Female | Liver | 2.84±0.92 | 2.63±0.32 | 2.31±0.24 | 2.41±0.46 |
| | Kidney | 0.32±0.06 | 0.32±0.04 | 0.29±0.05 | 0.32±0.06 |
| | Spleen | 0.18±0.04 | 0.18±0.02 | 0.15±0.02 | 0.16±0.04 |
| | Adrenal gland | 0.012±0.002 | 0.012±0.003 | 0.011±0.003 | 0.011±0.004 |
| | Ovary | 0.020±0.007 | 0.022±0.006 | 0.017±0.004 | 0.021±0.006 |
| | Brain | 0.71±0.06 | 0.73±0.05 | 0.68±0.04 | 0.66±0.08 |
| | Pituitary gland | 0.008±0.002 | 0.007±0.002 | 0.005±0.002 | 0.006±0.002 |
| | Heart | 0.37±0.05 | 0.42±0.16 | 0.31±0.03 | 0.32±0.04 |
| | Thymus | 0.12±0.02 | 0.10±0.02 | 0.11±0.03 | 0.11±0.02 |

Values are the mean ± S.D. (%) of 10 rats

Table 7. Histopathological findings of SD rats administered feeding with leaf folder resistant rice for 13 weeks

| Histopathological findings | Male | | | Female | | |
|---------------------------------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| | G1 (0%) | G2 (20%) | G4 (20%) | G1 (0%) | G2 (20%) | G4 (20%) |
| Number of animals | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Liver | | | | | | |
| Portal inflammatory cells | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Centrilobular apoptosis/vacuolation | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Medullary mineralization | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Periportal vacuolation | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Medullary cyst | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Kidney | | | | | | |
| Papillary mineralization | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Inflammatory cells | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Cortical vacuolation | 0 | 2 | 4 | 0 | 0 | 1 |
| Basophilia | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Cortical hypertrophy | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Heart | | | | | | |
| Myocardial inflammation | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Endocardial inflammation | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Myocardial fibrosis with inflammation | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Myocardial necrosis | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Myocardial hemorrhage | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Lung | | | | | | |
| Alveolar macrophage | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Pneumonitis | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Perivascular inflammatory cells | 2 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 |
| Alveolar osseous metaplasia | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Prominent BALT | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| Alveolar hemorrhage | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| Pigmented macrophage | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Spleen | | | | | | |
| Extramedullary hematopoiesis | 2 | 6 | 4 | 2 | 3 | 4 |
| Subcapsular vacuolation | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hemosiderosis | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Thymus | | | | | | |
| Involution/atrophy | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Cortical apoptosis | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Cysts | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Pancreas | | | | | | |
| Focal acinar atrophy | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fat replacement | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Acinar apoptosis | 3 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| Inflammatory cells | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |

Each value is the number of animals with histological findings

재조합된 흑명나방 저항성 유전자 변형 낙동벼(GMO)는 최고 투여용량인 20% 투여군에서 유의할 만한 독성이 유발되지 않았으므로 무해용량(NOAE ; No Observed Adverse Effect Level)은 10,000 mg/kg이상인 것으로 평가되었다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

Bevan, M.W., R.B. Flavell and M.D. Chilton (1983) A Chimaeric antibiotic resistant gene as a selectable marker for plant cell transformation. Nature. 304:184~187.

- Bradberry, S.M. (2003) Occupational methaemoglobinaemia. Mechanism of production, feature, diagnosis and management including the use of methylene Blue.
- Clinton, S.K. (1998) Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease, *Nutr Rev.* 56:35~51.
- De Lumen, B.O., A.F. Galvez, M.J. Revilla and D.C. Krenz (1999) Molecular strategies to improve the nutritional quality of legume proteins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 464:117~126.
- Ferber, D. (1999) GM crops in the cross hairs. *Science.* 286(5445): 1662~1666.
- Fraley, R.T., S.G. Rogers, R.B. Horsch, P.R. Sander, J.S. Rick, S.P. Adams, M.L. Bittner, L.A. Brand, C.L. Fink, J.S. Fry, G.R. Gallup, S.B. Goldberg, N.L. Hoffman and S.C. Woo (1983) Expression of bacterial genes in plant cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 80:4803~4807.
- Hercberg, S., P. Galan, P. Preziosi, M.J. Alvarez and C. Vazquez (1998) The potential role of antioxidant vitamins in preventing cardiovascular diseases and cancers. *Nutrition.* 14(6):513~520.
- Herrera-Estrella, L., G. Van den Broeck, R. Maenhaut, M. Van Montagu, J. Schell, M. Timko and A. Cashmore (1984) Light-inducible and chloroplast-associated expression of a chimaeric gene introduced into *Nicotiana tabacum* using a Ti plasmid vector. *Nature.* 310:115~120.
- Hoef, A.M., E.J. Kok, E. Bouw, H.A. Kuiper and J. Keijer (1998) Development and application of a selective detection method of genetically modified soy and soy-derived products. *Food Addit. Contam.* 15(7):767~774.
- Koenig, R. (1999) European researchers grapple with animal rights. *Science.* 284(5420):1604~1606.
- Martens, M.A. (2000) Safety evaluation of genetically modified foods. *Int. Arch Occup Environ. Health.* 73:S14~S18.
- McMillan, and Thompson, J.C. (1979) An outbreak of suspected solanine poisoning in school boys: examinations of criteria of solanine poisoning, *Q J. Med.* 48(190):227~243.
- Millstone, E., E. Brunner and S. Mayer (1999) Beyond 'substantial equivalence'. *Nature.* 401(6753):525~526.
- Momma, K., W. Hashimoto, H.J. Yoon, S. Ozawa, Y. Fukuda, S. Kawai, F. Takaiw, S. Utsumi and K. Murata (2000) Safety assessment of rice genetically modified with soybean glycinin by feeding studies on rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64:1881~1886.
- Novak, W.K. and A.G. Haslberger (2000) Substantial Equivalence of antinutrients and inherent plant toxins in genetically modified novel foods, *Food and Chemical Toxicology.* 38: 473~483.
- Nordlee, J.A., S.L. Taylor, J.A. Townsend, L.A. Thomas and R.K. Bush (1996) Identification of Brazil-nut allergen in transgenic soybeans, *N. Engl. J. Med.* 334(11):702~692.
- Percy MJ, NY McFerran and TR Lappin (2005) Disorders of oxidized haemoglobin. *Blood Rev.* 19:61~68.
- Schroder, M., M. Poulsen, A. Wilck, S. Kroghsbo, A. Miller, T. Frenzei, J. Danier, M. Rychlik, K. Emami, A. Gatehouse, Q. Shu, KH. Engel, I. Altosaar and I. Knudsen (2006) A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry 1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats. *Food Chem Toxicol.* 45(3):339~349.
- Wilmot, I., A.E. Schnieke, J. McWhir, A.J. Kind and K.H. Campbell (1997) Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature.* 385(6619):810-813.
- Young, A.L. and C.G. Lewis (1995) Biotechnology and potential nutritional implications for children. *Pediatr Clin North Am.* 42(4):917~930.

SD 랫드에서 흑명나방 저항성 유전자 변형 낙동벼의 13주 경구 반복투여 독성에 관한 연구

서동석 · 권민 · 성하정 · 박철범*

호서대학교 안전성평가센터

요약 본 연구는 흑명나방 저항성 유전자 변형 낙동벼(GMO)의 식품으로서의 안전성을 평가하고자 13주 경구 반복투여 독성시험을 수행하였다. SD 랫드를 0, 5, 20%의 유전자 변형 낙동벼와 20% 낙동벼(Non-GMO)를 투여군으로 분리하여 13주간 투여한 후 체중, 사료섭취량, 요, 혈액 및 혈액생화학, 부검 및 조직병리학적 검사를 수행하였다. 시험종료시까지 모든 동물은 생존하였으며, GMO 벼의 투여와 관련된 독성은 관찰되지 않았다. 따라서 흑명나방 저항성 유전자 변형 낙동벼의 무독성량은 10,000 mg/kg/day 이상일 것으로 판단되며, 13주 경구 반복투여 독성은 없는 것으로 평가되었다.

색인어 흑명나방 저항성 벼, 반복경구독성, 사료, 무독성량