J. Soc. Cosmet. Scientists Korea
Vol. 37, No. 3, September 2011, 247-256

Methoxycinnamidopropyl Polysilsesquioxane의 랫드를 이용한 배·태자 발생독성 연구

홍 정 섭† · 임 정 현 · 김 강 현 · 박 명 규 · 조 기 연 · 박 길 종 · 정 택 규* · 김 자 영* · 윤 경 섭*

한국화학융합시험연구원(KTR), *(주)사임당화장품
(2011년 9월 9일 접수, 2011년 9월 16일 수정, 2011년 9월 19일 채택)

Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study of Methoxycinnamidopropyl Polysilsesquioxane

Jeong-Sup Hong†, Jeong-Hyeon Lim, Kang-Hyun Kim, Myeong-Kyu Park, Ki-Yeon Jo, Gil-Jong Park, Taek-Kyu Jung*, Ja-Young Kim*, and Kyung-Sup Yoon*

KTR (Korea Testing and Research Institute), 7-6, Gomak-Ri, Wolgot-Myeon, Gompo-Si, Kyunggi-Do 415-871, Korea
*R&D Center, Saimdang Cosmetics Co. Ltd.
(Received September 9, 2011; Revised September 16, 2011; Accepted September 19, 2011)

요 약: 기존의 유기계 자외선차단제는 피부투과 및 자극으로 인한 안전성의 문제가 제기되었으며, 무기계 자외선차단제는 나노화에 따른 안전성 문제가 제기되고 있다. 이로 인하여, 최근의 자외선차단제 연구는 유효성뿐만 아니라 안전성이 우수한 다양한 형태의 자외선차단제가 연구되고 있으며, 그 중의 하나가 유기-무기 결합구조의 자외선차단제에 관한 연구이다. 본 연구진은 가교된 고분자 입자 타입의 신규 자외선차단제로서 메톡시신나미도프로필실세스퀴옥산의 제조, 물성 및 유효성 평가에 대하여 보고한 바가 있다. 본 연구는 신규 자외선차단제인 메톡시신나미도프로필실세스퀴옥산의 랫드에 대한 배·태자 발생독성 연구에 관한 것으로서, 이러한 평가는 본 시험물질이 임상에서 임신 전·후에 노출 되었을 경우 불임 및 배·태아의 이상에 대한 구체적인 정보를 제공해줄 것으로 기대된다.

Abstract: Existing organic UV protection materials seem to be problematic due to their penetration and irritation to skin. Inorganic UV protection materials are also at issue for safety of their nano-type transformation. Therefore, the recent studies of UV protection materials have been focused not only on the effectiveness but also on their safety. One of the UV protection materials in study which have higher safety is the organic-inorganic conjugation type UV protection material. Previously, we have reported the manufacturing process, physical property and UV protection efficiency of methoxychinnamidoprophy poloysilsesquixan as a new cross-linked polymer type UV protection material. In this study, we have evaluated the effect of the methoxychinnamidoprophy poloysilsesquixan on embryo-fetal development in SD rats. This study is expected to show some definite information related to the effect on pregnancy or embryo-fetal abnormality in case of the clinical exposure of the methoxychinnamidoprophy poloysilsesquixan.

Keywords: *reproductive developmental toxicity, embryo-fetal developmental toxicity, UV screening agent, methoxycinnamidopropyl polysilsesquioxane*

† 주 저자 (e-mail: tg72@ktr.or.kr)

1. 서 론

자외선차단제는 크게 유기계 자외선차단제와 무기계 자외선차단제의 두 가지 종류로 분류할 수 있다. 기존의 유기계 자외선차단제는 자외선을 흡수하는 발색단을 갖는 화합물로서 우수한 자외선차단효과를 갖지만 저분자량 물질로서 피부흡수를 통한 부작용의 발생 우려가 있는 것으로 알려져 있다[1,2]. 반면에, 무기계 자외선차단제는 상대적으로 유기계 자외선차단제에 비해 안전성이 양호한 것으로 알려져 있지만 자외선차단 효능을 증가시키기 위한 나노 입자화로 인하여 피부흡수를 통한 광독성에 대한 우려가 있는 것으로 알려져 있다[3]. 최근의 자외선차단제에 대한 연구동향은 이러한 자외선차단제의 안전성에 대한 관점으로 많이 진행되고 있다. 유기계 자외선차단제는 500 dalton 이상의 상대적으로 큰 분자량의 물질로 고안되어 피부투과율을 낮추고자 하고 있으며, 무기계 자외선차단제는 입자 크기의 조절이나 코팅과 같은 표면 개질을 통한 유효성 향상과 관련된 연구가 주로 진행되고 있다[4,5]. Polysilsesquioxane은 $-(SiO_{1.5}R)_n-$의 기본 구조를 갖는 유기-무기 결합구조의 물질로서 1950년대에 처음 개발되었으며, 유기그룹 R에 다양한 기능기를 도입할 수 있으며 sol-gel 법에 의하여 안정된 가교구조를 갖는 물질로 변환시킬 수 있는 특징을 갖고 있다[6]. 본 연구진은 이러한 polysilsesquioxane의 특성을 이용하여 유기그룹 R로서 자외선흡수 기능을 갖는 methoxycinamoyl 기를 도입함으로써, UVB 영역에서의 우수한 차단효과를 갖고, 물이나 유기용매에 불용성인 안정한 가교된 고분자 입자 형태의 신규 자외선차단제인 메톡시신나미도프로필폴리실세스퀴옥산(methoxycinnamidopropyl polysilsesquioxane, SID UV-CUT^{TM})을 개발한 바 있다[7-9]. SID UV-CUT^{TM}은 입자의 크기가 수평균 입도로서 600 nm 정도의 크기를 갖기 때문에 피부를 통한 흡수는 불가능하지만 립스틱이나 파우더 색조제품 등의 경우 피부 이외의 경로로 인체 내부로 들어올 수 있는 가능성이 있기 때문에 인체에 적용되는 화장품 원료로서 다양한 형태의 안전성 시험이 필요하다고 할 수 있다. 본 연구는 SID UV-CUT^{TM}이 임신 중 랫드에 대한 배 · 태자발생에 미치는 영향을 평가하기 위하여 수행되었으며, 각 군당 임신 확인된 20마리 이상의 임신 랫드를 사용하였다. 투여용량의 설정근거로는 동일 시험물질에 대한 랫드의 90일 반복투여독성시험 결과를 토대로 각각 0, 250, 500, 및 1000 mg/kg (b.w.,rats)으로 설정하였다. 암컷의 교배성립일(gestation-0 day)을 기준으로 임신 6일(gestation-6 day)부터 임신 15일(gestation-15 day)까지 1일 1회 경구로 투여를 실시한 후 임신 중 랫드 모체 및 배 · 태자 발생에 미치는 독성학적 제반 영향을 확인할 목적으로 수행하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 시험물질

시험에 사용한 SID UV-CUT^{TM}은 흰색의 분말형태로서 (주)사임당화장품에서 제공받아 사용하였으며, 부형제 대조물로서 멸균증류수를 사용하였다.

2.2. 실험동물

실험에 사용된 모든 동물은 한국화학융합시험연구원의 실험동물의 사용과 관리에 관한 규정(2006. 12. 1 동물윤리위원회 개정고시)를 준수하여 실시하였으며, 8 ~ 9 주령의 암 · 수컷 Crl:CD(SD)-Rat((주)오리엔트 바이오)를 사용하였다. 본 연구에 사용된 랫드는 단회, 반복투여독성시험 및 생식독성시험 등의 안전성 시험에 널리 사용되고 있으며, 비교적 풍부한 시험기초자료가 축적되어 있어 시험결과의 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다. 동물 입수 시 모든 동물의 일반건강상태에 대한 수의학적 검사를 실시하였으며, 생식독성에 사용 가능한 주령(11 ~ 12주령 이상) 도달시까지 청정동물실에서 사육하였다. 사육환경은 온도 22 ± 3 ℃, 상대습도 50 ± 20 %, 환기횟수 10 ~ 15회/h, 조명주기 12 h (8:00 ~ 20:00), 조도 150 ~ 300 Lux로 설정된 동물사육실에서 사료와 음용수를 급여하여 사육하였다.

2.3. 시험군의 구성

수컷 동물과의 교미를 통해 임신 확인된 암컷 개체를 각각의 투여용량별 20수씩 사용하였다.

시험군	시험물질	임신모체수	투여량 (mg/kg b.w.)	투여액량 (mL/kg b.w.)
G1	부형제 투여군	20수	0	10
G2	SID UV-CUT	20수	250	10
G3		20수	500	10
G4		20수	1000	10

2.4. 일반증상의 관찰

시험기간 동안 1일 1회, 일반상태의 변화, 운동성, 외관, 자율신경 등의 일반증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

2.5. 체중변화 및 사료섭이량 측정

모(F0) 동물에 대하여 교미전에는 주 1회, 임신기에는 교배 성립일을 기준으로 임신 0일부터 19일(제왕절개 전일)까지 1일 1회 체중측정을 수행하였으며, 임신 0일부터 19일까지 2일 1회 사료섭취량을 측정하였다.

2.6. 교미확인 및 임신검사

수컷과 암컷을 각각 1 : 1로 동거시킨 후, 다음날 질전(vaginal plug) 또는 질내 정자의 존재 여부를 확인 하였으며, 확인된 모체(F0)의 경우 이날을 임신 0일령(gestation-0 day)으로 정하였다. 임신 유·무의 최종 판정은 부검시 자궁 내 태자의 존재, 착상흔적(ammonium sulphide staining)에 의해 최종 판단하였다.

2.7. 부검시 육안 소견

부검시 생존한 모(F0) 동물을 ether로 마취시켜 외관검사를 실시하고, 방혈 및 치사시켜 자궁과 함께 태자를 적출한 후 체내외 및 모든 체공(external surface & all orifices), 두개강(cranial cavity), 뇌 및 척수표면(external surface of the brain & spinal cord), 비강 및 부비강(nasal cavity & paranasal sinus), 흉강, 복강 및 골반강과 포함장기(thoracic, abdominal and cavities & their viscera), 경부장기조직(cervical tissues & organs)에 대한 육안 검사를 수행하였다.

2.8. 장기중량

모(F0) 동물 부검시 개체별로 간(liver), 비장(spleen), 심장(heart), 폐(lung), 뇌(brain), 자궁(uterus), 신장(kidneys-좌/우), 부신(adrenal glands-좌/우), 난소(ovaries-좌/우), 뇌하수체(pituitary)의 중량을 측정하였고, 10 % 중성포르말린 용액(neutral formalin)에 고정한 후 필요시 조직검체를 제작할 수 있도록 보관하였다.

2.9. 제왕절개시 관찰

모(F0) 동물 부검시 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배자수 및 사망태자수를 조사하여 착상률과 태자 사망률을 다음의 수식에 따라 산출하였다.

$$\text{착상률}(\%) = \frac{\text{착상수}}{\text{임신황체수}} \times 100$$

$$\text{태자사망률}(\%) = \frac{(\text{흡수배자수} + \text{사망태자수})}{\text{착상수}} \times 100$$

2.10. 차산자(F1) 관찰

적출된 자궁을 제왕절개하여 왼쪽 자궁각의 난소측에서부터 태자에 번호를 매겨 생존태자의 체중과 태반무게를 측정하고, 적출된 태자에 대하여 전체적으로 눈, 귀, 입, 구개, 사지와 꼬리의 결손 여부, 위치, 크기 및 형태 등의 외표이상 유무를 검사하고, 항문과 성기 사이의 거리 등으로 생존태자의 성별을 조사하여 태자의 성비를 산출하였다.

2.11. 차산자(F1) 내부장기 이상 검사

전체 생존태자의 절반(왼쪽 자궁각의 난소 측으로부터 짝수번호)을 Bouin 액에 2주 이상 고정한 후, 두부 및 복부는 Wilson법[10], 흉부는 Nishimura법[11]에 의하여 내부장기이상 유·무를 검사하였고, 검사 종료 후 내장 표본은 태자별로 보관하였다.

2.12. 차산자(F1) 골격기형 검사

나머지 절반(홀수번호)의 생존태자는 95 % 에탄올에 1주 이상 고정한 후 변화시킨 Inouye의 골·연골 이중염색법[12]으로 박피 및 염색하여 골격 검체를 제작한 다음 실체현미경 하에서(SMZ11, Zeiss, Germany) 순차적으로 골격이상의 유·무 및 골화 상태에 대하여 검사하였다. 검사 종료 후 골격 표본은 모체별로 보관하였다.

2.13. 태자 발생이상의 분류 및 표기

태자 발생이상소견은 기형과 변이로 구분하여 표기하였으며, 발생이상의 용어는 Wise 등[13]이 보고한 실험동물의 발생학적 이상에 대한 영문용어집을 참고하여 표기하였다.

2.14. 통계처리

통계분석은 시험 자료의 성질상 그리고 동물 수에 있어서 충분히 큰 표본이므로 정규분포를 가정하고 일원배치분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였다. 검정한 결과 유의성이 나타났을 경우에는 대조군과 시험물질 투여군 간에 차이가 있는지를 검사하기 위하여 다중비교법인 Dunnett test를 실시하였다. 차산자에 대한 시험자료는 한배에서 나온 태자의 내부장기

Table 1. Clinical Signs of Maternal Rats

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Number of animal	Signs
G1	0	20	-
G2	250	20	Alopecia (4)
G3	500	20	Alopecia (1)
G4	1,000	20	Alopecia (1)

이상발현, 골격기형, 황체수, 흡수배자(태자)수 및 사망태자수를 이용하여 통계분석을 실시하였다. 모든 통계분석은 SPSS 10.0 통계 프로그램(SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)을 이용하여 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 모(F0) 동물에 미치는 영향

시험기간 동안 1일 1회, 일반상태의 변화, 운동성, 외관, 자율신경 등의 일반증상 및 사망동물의 유·무를 관찰한 결과, 부형제투여군을 제외한 시험물질투여군의 임신모체에서 국소적 탈모증(alopecia)이 일부 동물에서 발현되었다(Table 1). 임신확인 후 제왕절개일까지 각각 측정된 모동물(F0)에 대한 체중을 분석한 결과, 투여당일 전체 투여군에서 일시적인 체중감소가 관찰되었다(Table 2). 그 외 시험물질 투여의 영향으로 사료되는 체중의 변화는 관찰되지 않았다. 임신확인일(gestation-0 day)기준 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 및 19일에 각 투여용량군에 대한 사료 섭취량을 측정 분석한 결과, 통계학적으로 유의한($p < 0.05$) 변화는 관찰되지 않았다(Table 3). 모(F0) 동물에 대한 임신 20일째, 제왕절개를 수행하여 임신 확인된 동물의 황체수, 착상수, 착상률, 초(후)기흡수배자수 등을 분석한 결과, 부형제 투여군 대비 각각의 용량별 시험물질 투여군에 있어 통계학적으로 유의한($p < 0.05$) 변화는 관찰되지 않았다(Table 4). 배·태자발생에 미치는 영향을 확인하기 위한 암컷 모(F0) 동물 부검시 시험물질의 영향으로 사료되는 육안적 장기 이상은 발현되지 않았다. 각 용량별 장기중량을 비교 확인한 결과, 1,000 mg/kg (b.w.,rats) 투여군의 간장에 대한 상대중량에 있어 부형제투여군에 비해 통계학적으로 유의($p < 0.01$)한 감소가 관찰되었다(Table 5). 기타 측정된 장기별 상대 및 절대중량 비교에 있어 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

3.2. 차산자(F1)에 미치는 영향

차산자 사망률, 태반무게, 태자 체중 및 생존태자에 대한 암·수 비율에 있어 각각의 용량별 투여군에서 통계적으로 유의($p < 0.05$)한 차이는 발현되지 않았다(Tables 6, 7). 제왕절개(cesarean section)을 통해 획득한 차산자의 외표기형을 분석한 결과, 왜소태자(dwarfism), 피하혈종(hematoma), 구개열(cleft palate)이 투여용량과 무

Table 2. Bodyweight of Maternal Rats

Group	Dose (mg/kg B.W.)		Day(s) after gestation																			
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
G1	0	Mean	266.9	275.3	282.9	287.6	293.1	299.9	304.7	308.0	306.7	311.9	318.7	329.1	336.5	340.7	346.9	352.4	361.0	376.2	393.2	411.1	426.1
		S.D.	14.0	13.2	14.6	13.4	14.3	15.1	13.4	14.6	13.8	14.5	19.4	14.2	15.3	16.3	17.9	18.5	20.2	18.0	19.7	20.2	23.1
		N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G2	250	Mean	274.7	282.1	288.6	294.7	303.4	309.2	308.1	312.9	319.4	322.2	327.9	335.9	343.9	349.2	356.0	362.8	371.0	383.3	402.0	421.0	436.6
		S.D.	14.6	12.3	16.5	19.1	14.2	16.0	22.5	20.7	18.2	17.2	15.2	17.0	16.9	18.1	18.6	20.3	20.3	19.3	21.5	22.8	23.7
		N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G3	500	Mean	252.4	257.6	264.4	270.9	275.1	281.2	282.4	281.0	281.2	285.3	291.7	302.0	309.4	313.9	315.9	323.1	334.6	348.2	363.9	381.9	403.1
		S.D.	17.3	17.8	17.0	18.2	18.3	18.9	20.7	17.4	19.7	18.6	19.6	20.4	19.4	19.9	21.8	22.5	21.8	24.4	25.7	27.5	28.6
		N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G4	1000	Mean	272.4	280.8	291.0	296.7	301.9	308.1	311.8	312.9	317.9	319.5	325.7	337.6	344.1	349.2	354.2	361.4	369.9	384.0	401.9	420.5	437.7
		S.D.	14.7	16.5	18.0	16.1	16.8	16.5	18.2	17.5	17.7	16.8	20.6	19.4	19.2	20.7	23.4	21.5	23.1	24.0	24.9	27.1	27.5
		N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Table 3. Food Consumptions of Maternal Rats

Group	Dose (mg/kg B.W.)		Day(s) after gestation										
			0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	19
G1	0	Mean	18.82	21.93	23.53	28.13	26.78	24.32	30.45	26.49	30.18	29.71	30.58
		S.D.	3.90	4.07	4.21	13.43	7.93	4.65	20.35	4.08	3.56	4.67	10.82
		N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G2	250	Mean	21.37	25.31	25.37	24.50	25.39	29.10	25.67	36.87	29.17	27.09	27.84
		S.D.	3.81	5.62	2.11	4.94	4.62	13.67	3.92	46.55	3.44	5.79	4.99
		N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G3	500	Mean	18.25	24.56	25.93	26.44	24.29	27.23	26.05	27.27	30.20	28.18	27.90
		S.D.	4.10	5.05	4.53	2.90	7.18	4.83	3.63	3.24	3.77	4.30	4.21
		N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G4	1000	Mean	19.62	29.37	37.09	28.54	26.95	30.51	27.71	26.49	30.42	29.05	27.26
		S.D.	3.52	24.81	42.82	8.22	11.51	21.58	4.74	4.26	4.66	3.54	3.56
		N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Table 4. Implantation Rate and Fetal Mortality in Maternal Rats

Group	Dose (mg/kg B.W.)		No. of implantation	Implantation rate (%)	Implantation rate (%)	Early resorption	Late resorption	Fetal death	Total No. of death
G1	0	Sum	301			9	2	0	11
		Mean	15.1	92.2	92.2	0.5	0.1	0.0	0.6
		S.D.	1.5	10.7	10.7	0.7	0.3	0.0	0.8
		N	20	20	20	20	20	20	20
G2	250	Sum	311			7	2	0	9
		Mean	15.6	91.4	91.4	0.4	0.1	0.0	0.5
		S.D.	1.1	10.6	10.6	0.7	0.3	0.0	0.8
		N	20	20	20	20	20	20	20
G3	500	Sum	299			4	4	1	9
		Mean	15.0	84.4	84.4	0.2	0.2	0.1	0.5
		S.D.	2.2	14.8	14.8	0.5	0.5	0.2	1.2
		N	20	20	20	20	20	20	20
G4	1000	Sum	303			3	2	0	5
		Mean	15.2	86.7	86.7	0.2	0.1	0.0	0.3
		S.D.	1.8	12.2	12.2	0.4	0.4	0.0	0.6
		N	20	20	20	20	20	20	20

관하게 특정 모체로부터 획득한 태자(fetuses)에서 관찰되었다(Table 8).

내부장기이상 및 골격기형을 확인하기위해 태자검체에 대한 현미경학적 검경을 수행한 결과, 부형제투여군 및 고용량투여군에서 신장위치 이상(ectopic right kidney), 신우확장(dilated renal pelvis), 수뇨관 이상(dilatation or flexion), 심장의 형태이상(cardiac dysmorphia), 갈비뼈수과다(extra-rib), 머리뼈미골화(incomplete os-

Table 5. Relative Organ Weights of Maternal Rats (Unit : g)

Group Dose (mg/kg B.W.)		Body weights	Liver	Kidney		Spleen	Adrenal gland		Ovary		Brain	Pituitary gland	Lung	Heart	Thymus	Uterus
				Lt.	Rt.		Lt.	Rt.	Lt.	Rt.						
G1 (0)	Mean	100.0	3.83	0.25	0.23	0.17	0.011	0.011	0.016	0.016	0.46	0.004	0.32	0.26	0.09	18.86
	S.D.	0.0	0.23	0.05	0.03	0.04	0.002	0.002	0.006	0.003	0.05	0.001	0.05	0.03	0.03	1.27
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G2 (250)	Mean	100.0	3.62	0.24	0.24	0.17	0.014	0.012	0.016	0.014	0.46	0.004	0.34	0.25	0.08	19.55
	S.D.	0.0	0.27	0.02	0.02	0.02	0.019	0.010	0.003	0.004	0.04	0.001	0.03	0.02	0.01	1.37
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G3 (500)	Mean	100.0	3.64	0.24	0.25	0.16	0.010	0.011	0.016	0.015	0.48	0.005	0.33	0.25	0.08	18.64
	S.D.	0.0	0.30	0.02	0.03	0.03	0.002	0.002	0.003	0.004	0.06	0.001	0.04	0.03	0.02	3.12
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
G4 (1,000)	Mean	100.0	**3.47	0.24	0.23	0.18	0.016	0.014	0.016	0.016	0.43	0.004	0.34	0.24	0.09	19.38
	S.D.	0.0	0.22	0.02	0.03	0.04	0.027	0.022	0.002	0.004	0.07	0.001	0.04	0.04	0.02	1.82
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

** : $p < 0.01$

Table 6. Fetal Mortaliy and Live Fetuses

	Control group (G1)	SID UV-CUT (G4)
Fetal mortality (%)	Mean : 3.6 %	Mean : 1.7 %
Live fetuses (F1/maternal)	290 / 20 (Avg = 14.5 fetuses)	298 / 20 (Avg = 14.9 fetuses)

Table 7. Placenta/Bodyweight/Sex Rate of F1 Fetuses

	Control group (G1)	SID UV-CUT (G4)
Placenta weights	Male : 0.5 g Female : 0.5 g	Male : 0.5 g Female : 0.48 g
Bodyweight	Male : 3.74 g Female : 3.55 g	Male : 3.98 g Female : 3.80 g
Sex rate (female : male)	1 : 0.97	1 : 0.95

sification of skull), 등뼈중심아령형골화(dumbbell ossification of thoracic centrum), 등뼈중심분리(cleavage ossification of thoracic centrum), 복장뼈불완전미골화(incomplete ossification of sternebra) 등이 각각 관찰되었다(Table 9).

3.3. SID UV-CUT^{TM}의 배 · 태자 발생 독성 평가

본 연구에서는 SID UV-CUT^{TM}에 대한 설정 용량별 체내 노출시 생식발생독성에 미치는 영향을 확인하고자, 각 군당 임신 확인된 20마리 이상의 Sprague-Dawley계 통의 랫드를 사용하여 암컷의 교배성립일(gestation-0 day)을 기준으로 임신 6일(gestation-6 day)부터 15일(gestation-15 day)까지 1일 1회 경구투여를 실시한 후 시험물질에 의한 모(P) 동물의 독성학적 영향 및 임신 중 랫드의 배 · 태자 발생에 미치는 제반 영향을 평가하였다. 이러한 평가는 본 시험물질이 임상에서 임신 전 · 후에 노출되었을 경우 불임 및 배 · 태아의 이상에 대한 구체적인 정보를 제공해줄 것으로 기대된다. 암컷 모(F0) 동물의 경우 수컷과의 교미를 통해 임신 확인된 총 80마리의 임신 모체를 사용하였으며, 임신 20일(gestation-20 day) 제왕절개(cesarean section)를 실시하여 투여용량별 비임신 확인된 동물은 시험에서 제외시켰다. 시험기간 중 산출된 자료를 분석한 결과, 일반증상에 있어 부형제투여군 및 시험물질투여군의 일부 임신모체에서 발현된 국소적 탈모(alopecia) 증상의 경우 CD (SD)IGS Rat에 대한 biological reference data[14]의 결과를 인용, 자연발생적 동일 증상의 발현이 보고된 바 있으며, 본 연구원 조건하에서 수행된 설치류 중 · 장기 반복투여독성시험 및 생식발생독성시험 수행시 산발적으로 발현되는 증상으로서 용량의존성이 결여된 종 특이성에 기인한 유전

Table 8. External Abnormaly of F1 Fetuses

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Exophthalmos	Cleft palate	Dwarfism	Acaudate and imperforate anus	Mild malformed head shape	Exencephaly with exposed brain	Sum
G1	0	-	1	2	-	-	-	3 / (290)
G2	250	-	2	-	-	-	-	2 / (302)
G3	250	-	-	1	-	-	-	1 / (290)
G4	1,000	-	-	1	-	-	-	1 / (298)

Table 9. Visceral and Skeletal Findings in Fetuses

Visceral	Control group (G1) 139 / 290 fetuses	SID UV-CUT (G4) 145 / 298 fetuses
Misshapen thymus	31 (22.30 %)	23 (16.55 %)
Ectopic right kidney	1 (0.72 %)	-
Dilated renal pelvis	-	1 (0.72 %)
Dilatation or flexion	33 (23.74 %)	41 (29.50 %)
Cardiac abnormality	6 (4.32 %)	8 (5.76 %)
Skeletal	151 / 290 fetuses	153 / 290 fetuses
Incomplete ossification of skull	24 (17.27 %)	4 (2.88 %)
Dumbbell ossification of thoracic centrum	5 (3.60 %)	4 (2.88 %)
Cleavage ossification of thoracic centrum	5 (3.60 %)	8 (5.76 %)
Incomplete ossification of thoracic vertebra	18 (12.95 %)	19 (13.67 %)
Incomplete ossification of sternebra	6 (4.32 %)	4 (2.88 %)
Extra- rib(14th rib) : Short, Long, unilateral extra rib, rudimentary and flying	4 (2.88 %)	10 (7.19 %)

・환경적 우발 소견으로 사료된다. 모(F0) 동물의 체중 측정 결과, 임신 6일(gestation-6 day)차 이후 관찰된 전체 투여군에서의 임신 초・중반기 일별 체중증가의 일시적 정체 현상은 투여 스트레스에 따른 영향으로 사료되며, 임신 6 ~ 15일(gestation 6 ~ 15 day) 모체 내 차산자의 체・기관이 형성되는 시기로서 임신 중・후반부 급격하게 태자가 발생되는 시기로서, 임신 20 (gestation-20 day)일째 모(F0) 동물의 제왕절개(cesarean section)를 통해 획득한 모(F0) 동물별 생존 및 사망태자수, 태자체중, 차산자의 최기형성 등을 측정 비교 검토한 결과, 이러한 형태의 스트레스가 부형제 투여군을 포함한 각각의 용량별 투여군의 임신 상태의 모동물 및 체내 배태아의 성장발육에 미치는 영향은 경미할 것으로 판단된다. 모(F0) 동물에 대한 임신 20일째 제왕절개 결과, 투여용량별 비임신(시험에서 제외)으로 분류된 개체들에 대한 자궁 내 착상흔적 관찰을 통한 최종 임신 유・무 판단결과 비 임신된 모(F0) 동물의 자궁 내에서 조기유산 및 착상흔적이 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 시험물질투여 이전 및 교미종료 후 착상전 초기배・발생단계에서 자연소멸 또는 비 수정된 결과로서 시험물질의 영향이 아닌 자연발생적 비 임신으로 사료된다. 계획 부검에 따라 적출된 장기중량을 비교 검토한 결과, 1,000 mg/kg (b.w.,rats) 투여군의 간장에 대한 상대 장기중량의 통계학적으로 유의성($p < 0.01$) 있는 감소와 관련하여 부검시, 해당 장기에 있어 육안적 특이 이상은 관찰되지 않았으나, 간 중량변화의 요인으로서 부종, 간세포 비대, 간세포 증생 혹은 비실질조직의 증생이나 적응성 변화 등을 의심 할 수 있기에 동일 시험물질에 대한 90일 반복 경구투여독성시험 결과를 근거로 암컷 동물의 동일 장기에 대한 중량변화, 조직병리학적 판독 확인 결과, 공통적인 배경병변 이외 시험물질의 영향으로 판단되는 증상의 발현이 관찰되지 않은 점을 고려할 때, 상기 장기중량의 변

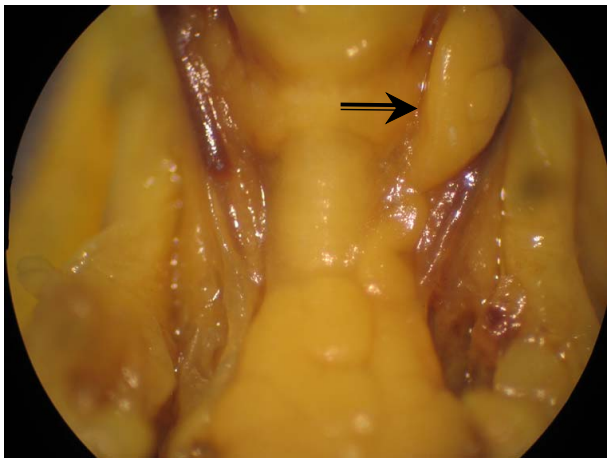

Figure 1. Misshapen thymus.

Figure 2. Dilated renal pelvis.

화는 자연발생적 우발 소견으로 사료된다. 태자(F1)에 대한 분석결과, 1000 mg/kg (b.w.,rats) 투여군에서 관찰된 통계학적으로 유의성($p < 0.05$) 있는 증가와 관련하여, SID UV-CUT^{TM}에 대한 출생 전·후 발생 및 모체 기능시험(segment-Ⅲ)을 통해 획득한 결과를 통해, 동일한 용량을 투여한 모(F0) 동물로부터 자연 분만된 차산자(F1)의 출생 직·후 체중 및 성장발달 등 성성숙 이후 시점까지 그 차이점이 인정되지 않은 점 등을 고려했을 때 암컷 태자의 체중증가는 자연발생적 발현 소견으로 약물 노출에 따른 직접적인 독성 징후는 아닌 것으로 판단된다. 외표이상에 있어 관찰된 왜소태자(dwarfism), 피하혈종(hematoma), 구개열(cleft palate)의 경우 특정 임신모체의 매우 제한적인 발현으로서, 동복자의 다른 생존태자 및 동일 투여용량의 모(F0) 동물로부터 획득한 생존태자에서 추가 증상의 발현이 관찰되지 않은 점,

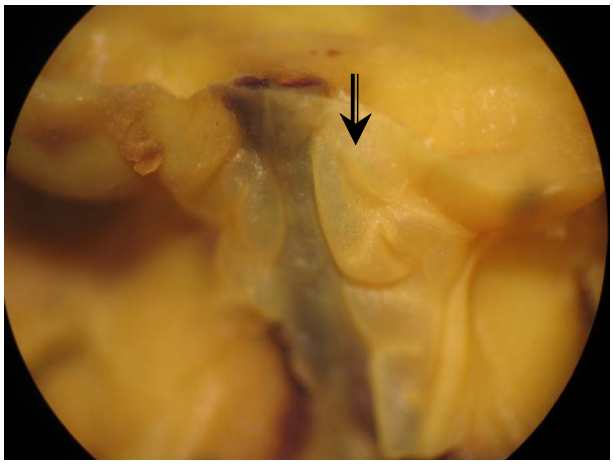

Figure 3. Dilatation and flexion of the ureter.

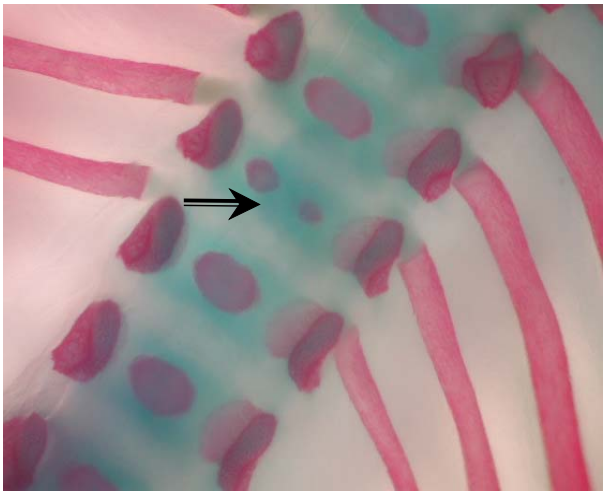

Figure 4. Cleavage ossification of thoracic centrium.

용량의존성이 결여된 점, 기타 본 연구원에 측적된 생식발생독성 시험기초 자료를 근거로, 해당 발현은 시험물질에 의한 독성학적 영향이 아닌 종 특이성 또는 유전·환경적 요인에 기인한 자연발생적 우발 소견으로 사료된다. 태자(F1)의 내부장기이상 유·무 및 골격기형 검사를 수행한 결과, 변이로서 흉선의 형태 이상(Figure 1), 신우확장(Figure 2), 신장의 위치 이상(ectopic kidney), 수뇨관 이상(Figure 3), 심장의 형태이상(cardiac dysmorphia), 갈비뼈수과다(extra-rib), 등뼈중심아령형골화(dumbbell ossification of thoracic centrum), 복장뼈불완전미골화(incomplete ossification of sternebra), 기형으로서 차산자의 골격에서 관찰된 등뼈중심분리(Figure 4)와 머리뼈미골화(incomplete ossification of skull) 등의 발현과 관련하여, 용량의존성이 결여된 발현으로서

부형제투여군에서 발현빈도가 높은 점 및 증상 정도(grade)가 경미한 점 등을 고려할 때 종 특성 및 유전·환경적 요인에 기인한 자연발생적 변이(기형) 발현증상으로 사료된다.

4. 결 론

이상의 결과를 종합해 볼 때, 1000 mg/kg (B.W., Rats) 수준의 SID UV-CUT^{TM}을 임신 중 랫드에 적용하였을 경우, 배·태자 발생에 미치는 영향은 없는 것으로 사료된다. 이에 본 연구 조건에 의한 SID UV-CUT^{TM}의 임신모(F0)동물과 배·태아에 대한 체내 노출시 무독성량(NOAEL : no-observed-adverse-effect levels)은 1000 mg/kg (b.w.,rats) 용량 수준으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 자원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호 : A103017).

참 고 문 헌

1. K. M. Habson, E. Gratton, and C. J. Bardeen, Sunscreen enhancement of UV-induced reactive oxygen species in the skin, *Free Radical Biol. Med.*, **41**(8), 1205 (2006).
2. E. Damiani, W. Baschong, and L. Greci, UV-filter combinations under UV-A exposure: Concomitant quantification of over-all spectral stability and molecular integrity, *J. Photochem. Photobiol. B.*, **87**(2), 95 (2007).
3. N. Serpone and A. Salinaro, Terminology, relative photonic efficiencies and quantum yields in heterogeneous photocatalysis, *Pure Appl. Chem.*, **71**, 303 (1999).
4. J. D. Bos and M. M. Meinardi, The 500 dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs, *Exp. Dermatol.*, **9**, 165 (2000).
5. N. Shaath and I. Walele, Inorganic particulate ultraviolet filter, 281, Taylor & Francis, New York (2005).
6. E. Tegou, V. Bellas, E. Gogolides, P. Argitis, D. Eon, G. Cartry, and C. Cardinaud, Polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSSP) based resists: materials design challenges and lighographic evaluation at 157 nm, *Chem. Mater.*, **16**, 2567 (2004).
7. M. S. Lim, Y. B. Kim, T. K. Jung, and K. S. Yoon, Development of UV-screening polysilsesquioxane spheres, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **31**(1), 65 (2005).
8. T. K. Jung, Y. B. Kim, T. J. Yoon, and K. S. Yoon, Studies on the *in vitro* SPF assay and application of cosmetic formulation of methoxycinnamidopropyl polysilsesquioxane with a new UV-screening agent, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **36**(1), 47 (2010).
9. D. K. Choi, T. K. Jung, T. Y. Lim, T. H. Kim, Y. B. Kim, J. H. Lee, K. S. Yoon, and T. J. Yoon, Protective effects of methoxycinnamidopropyl polysilsesquioxane, *Photochemistry and Photobiology*, in press (2011).
10. J. G. Wilson, Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals. In: Wilson, J. G., Warkany, J. (Eds.), Teratology. Principles and Techniques. University of Chicago Press, Chicago, 262-277 (1965).
11. K. A. Nishimura, Microdissection method for detecting thoracic visceral malformations in mouse and rat fetuses, *Congenital Anomalies*, **14**, 23 (1974).
12. M. Inouye, Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S, *Congenital Anomalies*, **16**, 171 (1976).
13. L. D. Wise, S. L. Beck, D. Beltrame, B. K. Beyer, and I. Chahoud, *et al.*, Terminology of developmental abnormalities in common laboratory mammals (version 1), *Teratology*, **55**, 249 (1997).
14. Biological reference data on CD(SD) IGS Rats-2001, Yokohama, (2001).
15. H. Morita, F. Ariuki, N. Inomata, K. Nishimura, Y. Hasegawa, M. Miyamoto, and T. Watanabe, Spontaneous malformations in laboratory animals : Frequency of external, internaland skeletal malformations in rats, rabbits and mice, *Congenital Anomalies*, **27**, 147 (1987).
16. T. Nakatsuka, M. Horimoto, Y. Matsubara, M. Akaike, and F. Ariyuki, Japan pharmaceutical manufacturers association (JPMA) survey on back-

ground control data of developmental and reproductive toxicity studies in rats, rabbits and mice, *Congenital Anomalies*, **37**, 47 (1997).
17. Prenatal developmental toxicity study, OECD TG 414, **22** (2001).
18. T. Yamada, M. Hara, Y. Ohba, T. Inoue, and H. Ohno, Studies on implantation traces in rats. II. Staining of cleared uteri, formation and distribution of implantation traces, *Jikken Dobutsu*, **34**, 249 (1985).
19. J. L. Stuckhardt and S. M. Poppe, Fresh visceral examination of rat and rabbit fetuses used in teratogenicity testing, *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, **4**, 181 (1984).
20. J. Stadler, M. J. Kessedjian, and J. Perraud, Use of the New Zealand white rabbit in teratology: Incidence of spontaneous and drug-induced malformations. *Food Chem. Toxicol.*, **21**(5), 631 (1983).
21. A. W. Hayes, Principles and methods of toxicology. *TAYLOR & FRANCIS*, 1301-1381 (2001).