

# N-Nitrosodimethylamine이 흰쥐 설선의 Glycoconjugates에 미치는 영향에 대한 Prelectin 조직화학

조기진, 박수진, 최윤주, 박숙미\*, 조운복  
부산대학교 사범대학 생물교육과

## 1. 서론

식품속의 아질산염은 위의 산성환경하에서 아민류와 반응하여 nitrosamine를 생성시키며, 중성과 알칼리성에서도 장박테리아 같은 적당한 촉매가 있으면 니트로소화반응이 일어난다(Rowland and Grasso, 1975). 많은 식품속에 존재하는 질산염과 아질산염은 nitrosamine의 전구물질로 그 농도가 높은 음료수와 식품의 섭취는 식도암, 위암, 간암 등의 발생률과 밀접한 관계가 있다(임창국 등, 1973).

Nitrosamine에 대한 최근 연구로는 nitrosamine의 생성기작의 규명(Hawrylewicz *et al.*, 1986), 생체내 생성된 nitrosamine 활성이 증진되는 요인(Takata and Hirano, 1983), 생체내 nitrosamine의 생성억제(Smith *et al.*, 1993), 간에서 nitrosamine 대사활동(Yoo *et al.*, 1988), nitrosamine의 전구물질인 아질산염을 분해시키는 물질(이선화와 우선자, 1989)에 대한 연구등이 있으나 혀의 점막에 타액을 분비하여 표면을 습윤, 윤활케하며 점막을 보호하는 기능을 하는 설 점액선의 glycoconjugates와 미뢰를 청소시켜 그 기능을 도와주는 역할을 하는 설 von Ebner선의 glycoconjugates에 발암물질인 nitrosamine이 미치는 영향에 대해 규명한 연구는 없다.

최근 조사에 의하면 서구(Tubiana, 1991) 및 중국(Doll *et al.*, 1994)의 젊은 층에 설암이 증가하는 것은 흡연과 밀접한 관계가 있다고 하여 담배연기속의 nitrosamine과 복합당질 상호간에 밀접한 관계가 있는 것으로 생각되어진다. 담배연기속이나 식품속에서 검출되는 NDMA가 흰쥐 설 점액선과 von Ebner선의 분비물로 타액에 분비되며 병원성 미생물의 일차적 장벽으로 그 중요성이 있는 복합당질(Quisell and Taback, 1989)에 어떤 영향을 미칠 것으로 사료되어 prelectin법으로 glycoconjugates의 macromolecule인 점액질의 성상변화를 연구

하였다.

## 2. 재료 및 실험방법

실험동물은 시판용 펠릿사료(제일사료)로 자유급식법으로 사육한 Sprague-Dawley계의 흰쥐를(체중 250-300gm) 사용하여 대조군과 실험군으로 나누었다. Nitrosocompounds은 NDMA를 사용하였다. 대조군은 공복상태의 흰쥐를 사용하고, 실험군은 NDMA 액제를 LD<sub>50</sub>의 1/2양(17mg/kg)을 경구적으로 투여한 후 3시간군, 6시간군, 12시간군, 24시간군, 48시간군, 72시간군, 96시간군 및 120시간군으로 나누고 각 군에 5마리씩 배정하였다. 흰쥐를 ether 마취시켜 설전체를 절취하여 시상절단하여 10% 중성 formalin용액에 24시간 고정한 다음 수세와 각급 alcohol에 탈수과정을 거쳐 6 $\mu$ m의 두께로 연속 파라핀 절편을 만들었다.

각 장기의 조직학적 구조를 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 하고Glycoconjugates의 macromolecules은 prelectin법으로 검색하였다. Neutral glycoconjugates(중성점액질)은 Periodic acid Schiff(PAS) 반응법과 타액 소화 후 PAS 반응법으로, acidic glycoconjugates(산성점액질)은 alcian blue pH 2.5(ABpH2.5) 염색법으로, acidic glycoconjugates와 neutral glycoconjugates의 조성은 AB pH 2.5-PAS 염색법으로, acidic glycoconjugates 중 sulfated glycoconjugates(sulfomucin)와 nonsulfated glycoconjugates(nonsulfomucin)는 high iron diamine(HID)-AB pH 2.5법과 aldehyde fuchsin(AF) pH 1.7-AB pH 2.5 염색법을 사용하여 검색하였다.

## 3. 결과 및 고찰

1. 대조군 및 NDMA 투여군의 흰쥐 설선의 Glycoconjugates의 prelectin의 조직화학

### 1) 설 von Ebner선

대조군 흰쥐 설 von Ebner선은 상당량 내지 다량의 neutral glycoconjugates만 함유하고 있어 조운복(1977)과 박수웅(1981)의 정상 흰쥐 설 von Ebner선의 결과와 일치하였다.

본 연구에서 설 von Ebner선의 neutral glycoconjugates가 대조군에 비해 NDMA투여후 12시간군과 72시간군에서 현저히 감소되었으며 NDMA 투여후 96시간군후에 회복되는 경향을 나타내었다. 대조군에서 나타나지 않던 acidic glycoconjugates가 NDMA 투여후 6시간군부터 48시간군, 그리고 120시간군에서 약간의 장액세포들에서 나타났다.

이와 같은 결과는 각종 농약들이 설 von Ebner선에 미치는 영향(조운복,

1977; 박수웅, 1981)과 대부분의 장액선포들에서 유사한 결과를 나타내었으나 일부 장액선포세포들에서 acidic glycoconjugates가 나타나는 것이 각종 농약 투여군과 차이가 있는 것으로 보아 각종 농약들이 설 von Ebner선에 미치는 독성과 유사한 독성을 대부분의 장액선포들에서 유발시키나 일부 장액선포들에서 점액화가 일어나고 도관상피의 일부가 점액화 되고 중성점액질의 분비가 인정되는 것은 상피성 종양시(윤명인, 1984) 일어나는 결과와 유사하여 NDMA가 각종 농약들보다 더 강한 독성을 나타낸 것으로 사료된다.

## 2) 설 점액선

본 연구의 대조군 설 점액선은 상당량 내지 다량의 strong sulfated glycoconjugates와 상당량의 neutral glycoconjugates를 가지는 대부분의 점액세포들과 이들 외에 소량 내지 상당량의 sialic glycoconjugates와 상당량의 neutral glycoconjugates를 함유하는 약간의 점액세포들이 섞여 있었다.

설 점액선의 neutral glycoconjugates와 acidic glycoconjugates가 대조군에 비해 NDMA 투여후 3시간군, 24시간군, 48시간군에서 다같이 현저히 감소되었으며, 후자는 NDMA 투여후 72시간군에 아주 현저히 감소하였다. acidic glycoconjugates중 sulfated glycoconjugates는 대조군에 비해 NDMA 투여후 감소하는 경향을 나타내며 NDMA 투여후 72시간군에 가장 현저한 감소를 나타내는데 비해 sialic glycoconjugates는 NDMA 투여후 3시간군, 12시간군 및 48시간군에서 증가하는 경향을 나타내었다.

이와 같은 사실은 유기인제 농약, Carbamate제, 유기염소제 및 제초제가 흰쥐 설선에 미치는 영향(조운복, 1977; 박수웅, 1981)과 비슷하였으나 본 연구에서 도관상피의 점액화가 일어나 각종 타액선 종양시 일어나는 변화(최경관, 1992)와 유사한 변화가 일어난 것으로 보아 각종 농약들보다 더 강한 독성을 나타낸 것 같으며 NDMA 투여군에서 acidic glycoconjugates와 neutral glycoconjugates의 감소와 증가 그리고 정상변화와 같은 변화가 일어나는 것으로 보아 생체 방어기작에 강한 내적 환경조성에 중요한 생리적 역할을 담당하는 glycoconjugates가 NDMA독성에 대해 적극적으로 방어기작에 관여하는 것으로 생각된다.

## 4. 요약

발암물질인 NDMA 17mg/kg을 경구 투여했을 때 흰쥐 설 von Ebner선과 설 점액선의 glycoconjugates에 미치는 영향을 prelectin 조직화학으로 연구하였다. prelectin 조직화학법은 PAS반응, AB pH 2.5 염색법, AB pH 0.4 염색법, AB pH 2.5 -PAS 염색법, AF pH 1.7-AB pH 2.5 염색법 및 HID-AB pH 2.5 염색법을 사용하였다.

설 von Ebner선의 neutral glycoconjugates가 대조군에 비해 NDMA 투여 후 12시간군과 72시간군에서 현저히 감소되었으며 NDMA 투여 후 96시간군 후에 회복되는 경향을 나타내었다. 대조군에서 나타나지 않던 acidic glycoconjugates가 NDMA 투여 후 6시간군부터 48시간군, 그리고 120시간군에서 약간의 장액세포들에서 나타났다.

설 점액선의 neutral glycoconjugates와 acidic glycoconjugates가 대조군에 비해 NDMA 투여 후 3시간군, 24시간군, 48시간군에서 다같이 현저히 감소되었으며, 후자는 NDMA 투여 후 72시간군에 아주 현저히 감소하였다. Acidic glycoconjugates중 sulfated glycoconjugates는 대조군에 비해 NDMA 투여 후 감소하는 경향을 나타내며 NDMA 투여 후 72시간군에 가장 현저한 감소를 나타내는데 비해 sialic glycoconjugates는 NDMA 투여 후 3시간군, 12시간군 및 48시간군에서 증가하는 경향을 나타내었다.

#### 참고문헌

- Doll, R., Peto, R., Wheatley, K., Gray, R. and Sutherland, I., 1994, Mortality in relation to smoking:40 year's observations on male British doctors, *British Medical Journal*, 309:901-911.
- Hawrylewicz, E. J., H. H. Huang and J. M. Liu, 1986, Dietary protein, enhancement of N-nitromethylurea-induced mammary carcinogenesis and their effect on hormone regulation in rats, *Cancer Res.*, 46: 4395-4399,
- Quissell, D. O. and Tabak, L. A., 1989, Salivary mucin secretion., In Schultz S. G., Forte J. G., Rauner B. B., eds., *Handbook of physiology*. Rockville M. D., American Physiological society, 79.
- Rawland, I. R., and P. Grasso, 1975, Degradation of N-nitrosamines by intestinal bacteria, *Appl. Microbiol.*, 29: 7-12.
- Smith, T. J., Z. Guo, C. Li, S. M. Ning, P. E. Thomas and C. S. Yang, 1993, Mechanisms of inhibition of 4-(methyl nitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone bioactivation in mouse by dietary phenethyl isothiocyanate, *Cancer Res.*, 53: 3276-3282.
- Takata, K., and H. Hirano, 1983, Changes in soybean agglutinin (SBA) and peanut agglutinin (PNA) binding pattern in the epidermis of the developing chick embryo, *Dev. Growth Differ.*, 25: 299-305.
- Tubiana, M., 1991, Trends in primary and secondary prevention, *Cancer detection and prevention*, 15:1-5.
- Yoo, J. S. H., F. P. Guengerich and C. S. Yang, 1988, Metabolism of N-nitrosodiakylamines by human liver microsomes, *Cancer Res.*, 48:

1499-1504.

- 박수용, 1981, 흰쥐 설선내 점액질의 성상에 미치는 몇종 농약의 영향에 관한 비교조직화학적 연구, 부산대학교 의학박사 학위논문.
- 윤명인, 1984, 타액선 종양들이 생성한 점액질에 관한 조직화학적 연구, 부산대학교 의학박사 학위논문.
- 이선화, 우선자, 1989, 배추김치 숙성중 일부 첨가재료가 질산염, 아질산염 및 Vitamin C 함량에 미치는 영향. 한국식품화학학회지, 4: 161-166.
- 임창국, 윤명조, 권숙표, 1973. 식품중의 nitrosamine에 대한 연구.한국식품과학회지. 5:169-173.
- 조운복, 1977, 흰쥐 설선내 점액질에 미치는 유기인제계 농약의 영향, 부산의대 잡지, 17(2):23-35.
- 최경란, 1992, 타액선 종양조직의 Lectin 분포에 관한 연구, 서울대학교 치의학 석사 학위논문.