

## Suppressive Effect of Lactic Acid Bacteria on the Toxicity of Bisphenol A in Rats

Min Yoo<sup>†</sup> and Byung-Tae Min

<sup>†</sup>Department of Biology, Keimyung University, Taegu, 704-701, Korea  
Vilac Company LTD. R&D Center, Kimhae, Kyungnam, 621-190, Korea

We have examined if lactic acid bacteria could suppress the toxic effect of bisphenol A. *Lactobacillus casei* YA-70 was chosen as representative. Thirty rats were divided into two groups (immature and mature) according to the weight. Each group was divided again into the control group (only alcohol treatment), bisphenol A treated group, and bisphenol A plus *Lactobacillus casei* YA-70 treated group. When 500 ppm of bisphenol A was fed everyday, 83% of immature group and 50% of mature group died within 3 weeks. Their internal organs, mainly livers and lungs, were changed in color and severely damaged. In the intestine of 5 ppm-fed group tumor-like nodules were observed. However, their number and size were markedly decreased when *Lactobacillus casei* YA-70 was supplemented in diet. This study strongly indicates that *Lactobacillus casei* YA-70 might play an important role to suppress the toxic effect of endocrine disruptor.

**Key Words:** Endocrine disruptor, *Lactobacillus casei*, Bisphenol A, Tumor-like nodule

### 서 론

환경호르몬 (endocrine disruptor)이란 생활 환경으로부터 유입되어 내분비를 교란시키는 화학물질의 총칭이다<sup>13</sup>. 현재까지 140여종이 보고되었고 대부분 성호르몬 (sex hormone)의 기능을 억제하거나 내부 장기를 파손시키는 것으로 알려져 있다<sup>14</sup>. 환경호르몬에 의해 얼마나 큰 피해를 입는 지의 여부는 개체별로 조금씩 다르겠지만 자손 대에 이를 정도로 영향력이 장기적일 수 있고, 또 일단 오염되면 결과를 전혀 예측할 수 없다는 것이 무서운 점이다<sup>15</sup>. 보고에 따르면 유방암<sup>4,6</sup>, 자궁경부암<sup>17</sup>, 불규칙한 월경<sup>17</sup>, 고환암<sup>8</sup>, 불임<sup>3,7,15</sup> 등 다양한 질환이 환경호르몬에 의해 야기될 수 있는 것으로 알려져 있다. 게다가 일단 환경호르몬이 체내에 유입되면 이를 분해하거나 배출시킬 방법이 전혀 없어 사회적 불안이 고조되고 있는 실정이다.

최근에 일회용 식품이 늘어가면서 용기로부터 유래되는 비스페놀 A (bisphenol A)에 대한 관심이 집중되고 있다<sup>2</sup>. 본 연구는 유산균의 음용이 비스페놀 A에 의한 중앙 유발을 직접 억제할 수 있는 지 조사하려는 것이다. 물론 유산균과 비스페

놀 A의 상호 관계에 대한 직접적인 보고는 아직 없지만 유산균이 항암 효능이 있음은 일반적으로 잘 알려진 사실이기 때문이다<sup>18</sup>.

이미 WHO에서 환경호르몬의 인체 허용량을 대폭 강화하였고 따라서 이에 대한 규제는 앞으로 더욱 심각해질 것이라는 전망이다. 그렇지만 이런 급박한 현실에도 불구하고 환경호르몬의 억제와 치료에 대한 근본적인 연구가 아직 부진한 실정이다. 본 연구는 환경호르몬에 대해 아무런 대비없이 막연히 두려움만을 보이는 우리 사회에 오히려 적절한 지식을 심어 주고 적극적으로 대처할 수 있는 방안을 마련할 전기가 될 것으로 기대된다.

### 재료 및 방법

실험동물은 Sprague-Dawley 흰쥐를 사용하였다. 실험 편의상 몸무게에 따라 성체군을 300 g 이상으로, 소아군을 50 g 이하로 구분하였다. 비스페놀 A는 Sigma Co. (USA)에서 구입하였다. 실험에 사용한 모든 주사기와 초차기구는 멸균된 일회용을 사용하였다. 유산균은 (주)비락의 시제품에서 채취한 *Lactobacillus casei* YA-70이었다.

비스페놀 A는 1일 2회, 12시간 간격 (오전 8시와 오후 8시)으로 투여하였다. 비스페놀 A를 40% 알코올에 녹여 저장 용액을 만들었고, 이를 희석해서 5 ppm과 500 ppm의 두가지로 구분하여 투여하였다. 유산균은 (주)비락의 시제품 요구르트를 풀

\* 논문 접수: 2001년 2월 6일  
수정재접수: 2001년 3월 20일

<sup>†</sup>별책 요청 저자: 유민, (우: 704-701) 대구광역시 달서구 신당동 1000 계명대학교 생물학과

Tel & Fax: 053-580-5537, E-mail: ymin@kmu.ac.kr

"본 연구는 2000년도 계명대학교 비사연구기금으로 이루어졌음"

로니 계수한 후 1일 약 5 ml ( $5 \times 10^{10}$  cfu 이상)씩 투여하였다. 투여 방식은 주사기를 이용한 구강 투여였다. 성체군과 소아군은 계속해서 대조군 (알코올만 동량으로 투여), 비스페놀 투여군, 비스페놀과 유산균의 혼합 투여군으로 각각 나누어 실험을 실시하였다. 실험군별로 행동학적 변화, 몸무게 변화, 크기 변화 등을 관찰하였고, 에테르로 마취시켜 개복한 후에 장기의 색, 위치, 형태, 크기, 종양절절 (tumor-like nodule) 유무 등을 비교하였다.

## 결과 및 고찰

환경에서 유래된 화학물질이 인체에 얼마나 치명적인지 단정해 말하기는 어렵지만 상당수가 성호르몬 (sex hormone)과 유사한 활성을 지니고 있어 내분비 계통을 교란시킨다고 알려

져 있다<sup>11)</sup>. 또한 그 결과로 대부분의 환경호르몬이 불임을 유도하거나 암을 유발한다고 보고되어 있다. 대표적인 경우가 여성 생식기에서의 선암종 (adenocarcinoma)이고, 유방암과 고환암 역시 의심되고 있다<sup>10)</sup>. 환경호르몬의 대사과정은 명확하지 않지만 aromatase같은 스테로이드 cytochrome P450 효소를 억제하여 성호르몬의 균형을 깨뜨린다는 보고가 있다<sup>9)</sup>. 환경호르몬 폐해에 대해서는 실험동물을 이용한 연구 자료가 점차 축적되고 있는 추세로서 신경독성을 나타내거나 정자발생 (spermatogenesis)이 정지되어 버린 보고도 있다<sup>9)</sup>. 문제는 이런 물질들의 체내 대사과정이 아직 분명치 않고, 워낙 미량으로도 상기한 폐해들을 일으킬 수 있다는 점이다. 때문에 벌써 그 파급효과가 개인적 차원을 넘어 사회적 문제시되고 있어 미리 대비책을 강구할 필요성이 대두되고 있다.

한편 유산균의 항암 효능이 여러 측면에서 확인되고 있다.

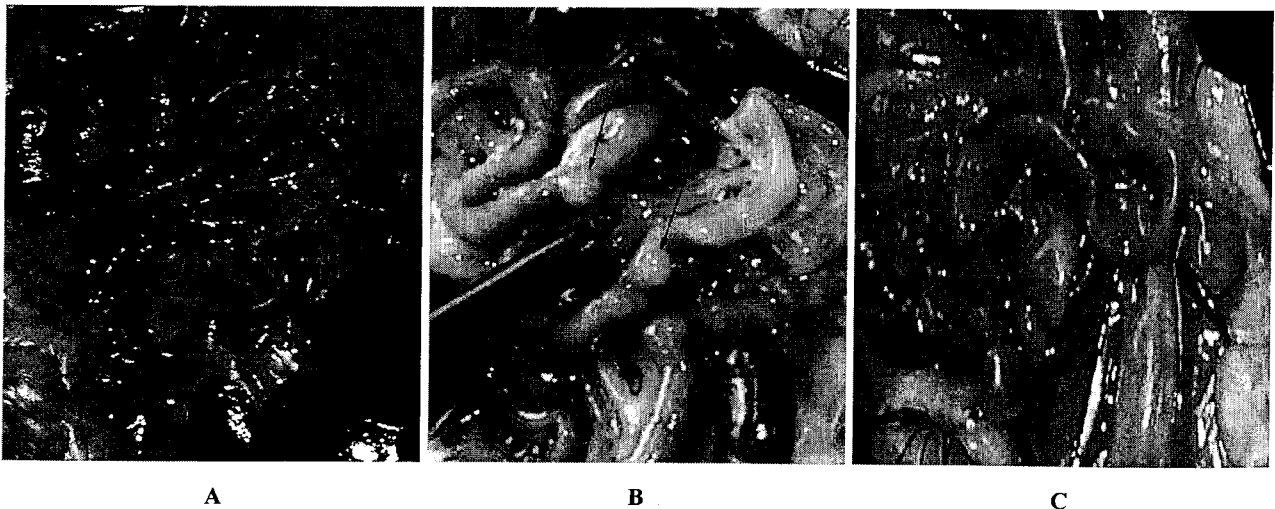
**Table 1.** Survival rate of experimental rats after treatment with Bisphenol A, Bisphenol A and *Lctobacillus casei* YA-70

	Control	Bisphenol A		Bisphenol A + <i>Lactobacillus casei</i>	
		5 ppm	500 ppm	5 ppm	500 ppm
Immature	3 (100%)	3 (100%)	0 ( 0%)	3 (100%)	1 (33%)
Mature	3 (100%)	3 (100%)	1 (33%)	3 (100%)	2 (66%)

\*Each group started with 3 individuals and numbers indicate the survivals. Control group was treated with only alcohol

**Table 2.** Inhibitory effect of Bisphenol A on the growth of *Lactobacillus casei* YA-70

1 µg	250 µg	500 µg	750 µg	1 mg	2.5 mg	5 mg	7.5 mg	10 mg	12.5 mg
+	+	+	+	+	+	+	±	-	-



**Fig. 1.** (A) Control group. No nodules are observed. The color of the internal organs is clear, (B) Bisphenol A treated group. Tumor-like nodules were developed and visible as indicated by arrows, (C) Bisphenol A plus *Lactobacillus casei* YA-70 treated group. Tumor-like nodules were markedly decreased in number and size.

역학 조사에 따르면 유산균이 함유된 발효유를 많이 섭취할 때 유방암 발생이 억제되었고 유제품과 섬유질을 많이 섭취하고 있는 핀란드 사람들에서는 대장암 발생이 현저히 적은 것으로 보고되었다<sup>12,20</sup>. Bogdanov는 유산균이 암세포의 증식을 직접 억제한다고 보고하기도 했는데 아직 유산균 항암 효과의 성분이 무엇인지 규명되지는 않고 있다<sup>11</sup>. 현재로서는 세포벽에 존재하는 peptidoglycan과 polysaccharide 성분일 것으로 추정하고 있다. 물론 이렇게 직접적인 항암 효과 외에도 항암물질을 세포벽에 붙여 배설되는 장청소 효과 역시 중요한 요소일 것으로 추측된다.

우리는 실험동물인 흰쥐를 대상으로 비스페놀 A에 대한 유산균 억제 효과를 시험하였다. 비스페놀 A가 식품용기에서 유래되어 장으로 축적되는 대표적인 환경호르몬으로 특히 태아 및 소아에서의 폐해가 잘 보고되어 있기 때문이다<sup>16</sup>.

실험은 모두 10개군 (각 군별로 3마리씩)으로 나누어 실시하였다. 실험기간은 당초 3개월로 계획하였으나 500 ppm을 투여한 실험군에서 대부분의 쥐가 20일을 전후하여 일찍 사멸하였기에 1개월로 단축 실행하였다. 비스페놀 A의 최소 투여량을 5 ppm으로 결정한 이유는 이것이 일상생활을 통한 평균 섭취량이기 때문이었다. 반면 500 ppm은 일상생활에서는 접촉할 수 없는 고농도이지만 비스페놀 A의 폐해를 확실히 관찰하기 위해 결정한 농도였다. 500 ppm을 투여한 경우 단독 투여 또는 *Lactobacillus casei* YA-70를 병행 투여한 6마리 중 소아군에서만 5마리가 (83%), 성체군에서는 3마리가 (50%)가 3주 이내 사멸하였다 (Table 1). 비록 모집단의 숫자가 적어 통계 처리가 어렵긴 하지만 일단은 비스페놀 A와 유산균을 동시 투여했을 때 생존률이 약간 상회하는 것으로 확인되었다. 사멸 직전 이들은 심각한 호흡곤란과 식욕부진 증세를 나타내었고, 부검한 결과 간과 폐와 같은 장기들이 심하게 흑갈색으로 변해 있었다. 500 ppm 투여군에서 3주 이상 살아남은 개체들의 증상도 비슷하였다. 때문에 사육을 계속할 지라도 이들의 생존 시간 역시 그다지 길지는 않을 것으로 예측되었다. 500 ppm을 투여한 군에서는 전체적으로 내부 장기의 파손이 워낙 심해 그외의 관찰은 더 이상 어려운 상태였다.

한편 5 ppm을 투여한 실험군에서는 사멸한 개체가 전혀 없었다 (Table 1). 때문에 비스페놀 A의 일상 섭취량 정도에서 생존 자체가 위협받지는 않는 것으로 추정되었다. 그러나 종양으로 보이는 결절 (nodule)들이 이들에게서 뚜렷하게 관찰되었다. 이들 결절은 소장주에 주로 퍼져 있었는데 적게는 개체당 3~5개, 많을 경우 6~10개 정도가 관찰되었다 (Fig. 1B). 비스페놀 A를 구강 투여할 때 40% 알코올에 녹여서 투여했기 때문에 알콜의 장기적 섭취가 결절의 원인이었을 수도 있다는 판단 아래 대조군에는 40% 알코올만을 섭취시켰지만 아무런 결절이 발견되지 않았다 (Fig. 1A). 따라서 결절의 생성 원인은 온전히 비스페놀 A에 있었던 것으로 결론지었다. 비스페놀 A

와 *Lactobacillus casei* YA-70을 동시에 투여한 군에서는 결절의 수가 현저히 줄어들었다 (Fig. 1C). 특히 소아에서는 이 현상이 더욱 뚜렷하여 아예 결절이 관찰되지 않은 개체도 있었다. 관찰된 결절에 대한 세포학적 연구는 계속 진행 중에 있다.

한편 유산균의 성장 역시 비스페놀 A에 의해 상호 억제될 수 있는지를 조사하였다. 실험 결과 *Lactobacillus casei* YA-70의 성장이 최종적으로 억제되기는 했지만 비스페놀 A의 농도가 ppm 단위를 훨씬 넘어선 10 mg 이상일 때에만 억제되는 것으로 확인되었다 (Table 2). 이러한 조건은 극한적인 것으로서 일상생활에서는 거의 접촉할 수 없는 농도이기 때문에 비스페놀 A에 의해 장내 유산균 기능이 역으로 억제될 가능성은 희박하다고 결론지었다.

*Lactobacillus casei* YA-70이 비스페놀 A를 억제하는 효능이 대사 작용에 의한 것인지 아니면 단순한 장청소 효과에 기인한 것인지 현재로서는 명확하지 않다. 일단은 장청소 효능에 의한 억제로 추정되지만 유산균이 장내 균총에서 우위를 점하면서 다른 세균들의 비스페놀 A 대사를 저해하고 그럼으로써 독성을 억제했을 가능성도 배제할 수 없다.

본 연구는 이미 체내로 유입된 환경호르몬에 대해 아무런 대책이 마련되어 있지 않은 현실점에서 우리 국민들에게 적절한 지식을 심어주고, 발효유 제품의 음용을 통해 건강 증진에 도움을 줄 것으로 기대된다.

#### 감사의 글

본 연구는 2000년도 계명대학교 비사연구기금으로 이루어졌음. 저자는 신송우 박사 (한림대학교)의 흰쥐 사육을 위한 기술적 도움 및 김수원, 최경아, 이형란, 장순영 (계명대학교)의 실험보조에 감사하는 바임.

#### 참 고 문 헌

- 1) Bogdanov IG, Velichkov VT, Gurevich AI, Dalev PG, Kolesov AMN and Khristova LN (1978): Antitumor action of glycopeptides from the cell wall of *Lactobacillus bulgaricus*. *Bull Exptl Biol Med*, **84**: 1750-1753.
- 2) Brotons JA, Olea-Serrano MF, Villalobos M, Pedraza V and Olea N (1995): Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environ Health Perspect*, **103**: 608-612.
- 3) Bujan L, Mansat A, Pontonnier F and Miesusset R (1996): Analysis of sperm concentration in fertile men in Toulouse, France between 1977 and 1992. *Br Med J*, **312**: 471-472.
- 4) Davis D (1993): Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. *Environ Health Perspect*, **101**: 372-377.
- 5) Davis DL and Bradlow HL (1995): Can environmental estrogens cause breast cancer? *Sci Am*, **273**: 166-171.

- 6) Davis DL, Bradlow HL, Wolff M, Woodruff T, Hoel DG and Anton-Culver H (1993): Medical hypothesis: Xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. *Environ Health Perspect*, **101**: 372-377.
- 7) Fisch H and Goluboff ET (1996): Geographic variations in sperm counts: a potential cause of bias in studies of semen quality. *Fertil Steril*, **65**: 1044-1046.
- 8) Gilliland FD and Key CR (1995): Male genital cancers. *Cancer*, **75**: 295-315.
- 9) Gray LE, Ostby J, Wolf C, Lambright C and Kelce W (1998): The value of mechanistic studies in laboratory animals for the prediction of reproductive effects in wildlife: endocrine effects of mammalian sexual differentiation. *Environ Toxicol Chem*, **17**: 109-118.
- 10) Henderson BE, Ross RK and Pike MC (1993): Hormonal chemoprevention of cancer in women. *Science*, **259**: 633-638.
- 11) Holzhausen C, Murphy S and Birke L (1984): Neonatal exposure to a progestin via milk alters subsequent LH cyclicality in the female rat. *J Endocrinol*, **100**: 149.
- 12) IARC Intestinal Microbiology Group (1977): Dietary fiber, transit time, fecal bacteria, steroids and colon cancer in two Scandinavian population. *The Lancet*, **2**: 207-211.
- 13) Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaatter S, Lucier G, Luster M, Mac M, Maczka C, Miller R, Moore JA, Rolland R, Scott G, Sheehan DM, Sinks T and Tilson HA (1994): Research needs for assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect*, **104**: 715-740.
- 14) Kelce WR, Monosson E, Gamesik MP, Laws SC and Gray LE (1994): Environmental hormone disruptors: Evidence that vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol*, **126**: 275-285.
- 15) Krause BA (1992): Decreasing quality of sperm. *Br Med J*, **305**: 1498.
- 16) Liaw J, Gould J, Welch F and Sar M (1997): Gestational and early lactational influence of bisphenol A on the differentiation of the SDN-POA in rat brains. *Toxicologist*, **36**: 14.
- 17) Robboy SJ, Noller KL, O'Brien P, Kaufman RH, Townsend D, Barnes AB, Gunderson J, Lawrence D, Bergstrahl E, McGorray S, Tilley BC, Anton J and Chazen G (1984): Increased incidence of cervical and vaginal dysplasia in 3,980 diethylstilbestrol-exposed young women. *J Am Med*, **252**: 2979-2983.
- 18) Setchell KDR (1981): Lignan formation in man-Microbial involvement and possible roles in relation to cancer. *Lancet*, **2**: 4-7.
- 19) Shapiro S, Slone D, Heinonen OP, Kaufman DW, Rosenberg L, Mitchell AA and Helmrich SP (1982): Birth defects and vaginal spermicides. *JAMA*, **247**: 2381-2384.
- 20) Veer PV, Dekker JM, Lamers JWJ, Kok FJ, Schouten EG, Brants HAI, Sturmans F and Hermus RJJ (1989): Consumption of fermented milk products and breast cancer: A case-control study in the Netherlands, *Cancer Res*, **9**: 4020-4023.