

Methoxychlor 투여한 흰쥐에 있어서의 Testosterone의 변화

백병걸* · 이부웅 · 임채웅 · 권혁년 · 허진 · 이은영 · 이희권¹ · 이성일² · 김병수³ · 이형자⁴ · 전병훈⁵

전북대학교 생체안전성연구소, 1: 고창군 복분자 연구소, 2: 서해대학교
3: Toyama Medical and Pharmaceutical University, 9300194, Japan, 4: 한국식품공업협회 부설 한국식품연구소
5: 원광대학교 한의과대학,

Effects on Testosterone of Splugue-Dawley by Methoxychlor

Byeong Kirl Baek*, Bou Oung Lee, Chae Woong Lim, Hyuk Nyun Kwon, Jin Hur, Eun Yong Lee, Hee Kwon Lee¹, Sung Ill Lee², Byung Su Kim³, Hyoung Ja Lee⁴, Byung Hun Jeon⁵

Biosafety Research Institute, Chonbuk National University, Chonju, 561-756, Korea
1: Korean Raspberry Experiment Station, Gochang-Gun Agriculture Development & Technology Center, 585-943, Korea
2: Sohae College, 573-717, Korea, 3: Toyama Medical and Pharmaceutical University, Toyama, 9300194, Japan
4: Korea Advanced Food Research Institute, Seoul
5: College of Oriental Medicine, Won-Kwang University, Iksan 570-749, Korea

In order to establish the experimental clinical model for evaluating the influences on the sexual hormones of SD-rat administrated with Methoxychlor(MET), it was dissolved in acetone and olive oil (1:19), which was administrated orally at doses of 200mg/kg body weight/day for 7 days. The Testosterone value was measured in sera by Gamma Count with 125I isotope, also weights of the body, testis and liver were measured for 15 weeks. Testosterone in the serum of intacted SD-rats was 0.51±0.43ng/ml(n=5), but it was 0.69±0.18(n=2)ng/ml on 1 week, 0.28±0.05ng/ml(n=2) on 3 week, 1.52±0.95ng/ml(n=3) on 5 week, and 0.54±1.95 ng/ml(n=3) 15 week post-dosing MET, respectively. Histologically, the numbers of spermatozoa and Leydig cells were reduced, which might influence to reduce sexual hormone, and AST and ALT was not increased in the serum due to administrating with MET, blood profile was not changed according to the administration of MET excepting MCH(Mean Corpuscular Hemoglobin). This study suggest that change of male sexual hormone by MET be a experimental model for evaluating some drugs associate with sex hormone.

Key words : Methoxychlor, testosterone, rat

서론

산업의 발달은 여러 종류의 환경오염 물질들이 만들어지고, 이들 오염 물질은 동·식물 내에 침투, 축적되어, 먹이 사슬을 통하여 사람에게 유입, 건강을 해치고 있다¹⁻³. 특히, 농산물의 생산성 향상을 위하여 사용되는 제초제나 살충제와 같은 농약은 환경에 잔류하여 동물의 번식기계에 악영향을 끼치는 항 호르몬제로서 염소제제에 대한 관심은 지대하다^{2,4-6}.

WHO, FAO 등에서 환경의 오염을 막기 위한 DDT나 DDVP

와 같은 염소 제제의 활용을 규제하면서 Methoxychlor(이하 MET라 칭함)와 같은 유기염소제를 새로이 개발, 사용하고 있는 실정이나⁷, 이는 포유류에는 비교적 독성이 미약하지만 estrogen 과 유사한 작용을 함으로서 생식기의 발육 이상과 같은 효과를 나타내고 있으며⁸⁻⁹, 설치류에서는 암 발생의 원인¹⁰이 되는가 하면, phytoestrogen으로서 우유로 배설되어 동물에게 항 호르몬 작용을 하는 것¹¹으로 알려지고 있다.

MET는 유기 염소계 살충제의 하나로써 흔히 접할 수 있는 농약 중 하나로 1972년 DDT의 사용이 금지된 이래 독성이 적고 체내 잔류기간이 DDT보다 짧은 이유로 그 사용량이 꾸준히 증가되고 있는 실정이지만⁷, MET를 투여한 실험동물에서 고환 발육과 정세관 형성에 장애^{2,5,12}, testosterone의 감소¹³⁻¹⁴, estrogen 물질로서의 호르몬 작용 변화¹⁵⁻¹⁸ 등에 대하여 광범위하게 연구가

* 교신저자 : 백병걸, 전북 전주시 덕진구 덕진동 1가 664-14, 전북대학교
· E-mail : baekbk@chonbuk.ac.kr, · Tel : 063-270-2559
· 접수 : 2004/05/29 · 수정 : 2004/06/30 · 채택 : 2004/07/22

이루어지고 있다. 본 연구자는 살충제 및 제초제로서 사용되고 있는 MET를 성숙한 수컷 흰쥐에게 투여한 후, 각 장기의 무게와 Testosterone량의 변화를 관찰하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육 환경

체중 180~200g에 달하는 수컷 흰쥐(Sprague Dawley rat) 18두를 실내에서 사육하면서 흰쥐용 퓨리나 사료와 음료를 주 간에만 제공하면서 사육하였다. 사육장은 인공조명으로 평균 300~500 Lux되도록 빛을 조정하여 12시간 제공하였으며(오전 9시부터 오후 9시까지), 그 후에는 빛을 차단하고, 실내 온도를 20±2℃를 유지하였다. 실험에 사용된 흰쥐는 Table 1과 같이 분포시켰다. 즉, 총 18두의 흰쥐에게 7일간 MET를 투여한 후, 단기(5주)와 장기(15주) 군으로 구분하여 급식시키면서 처음 5주간은 매주 2두씩 그리고 15주 후에는 3두를 실험에 사용하였다.

2. 성 기능 저하 유발 물질 투여 방법

성기능 저하 유발 물질로 알려진 MET의 투여는 Latchoumycandane 등(2002)¹⁴⁾방법에 준하여 경구 투여하였다. 즉, MET를 acetone과 olive oil(Italy, Costa)를 1:19로 혼합액을 준비하여 체중 Kg당 200 mg씩 1일 1회씩 7일간 카테타로 경구 투여하였다.

3. 흰쥐의 체중, 간 및 고환 무게 측정

흰쥐에게 7일간 MET를 투여한 후, 체중은 5주까지는 매주 측정하였으며, 15주 후에 다시 측정하였다. ether로 마취, 체중을 측정한 후, 곧 바로 희생시켜 채혈하고 복부를 절개하여 간 및 고환의 무게를 측정하였으며, 고환과 체중의 무게 비율(고환 무게/체중)을 측정하였다.

4. 흰쥐의 혈액 및 간 기능 검사

흰쥐에게 7일간 MET를 투여한 후, 5주까지는 매주 채혈하였으며, 15주 후 다시 측정하였다. 즉, EDTA병에 채혈하여, 혈액소견(총 백혈구수, 총 적혈구수, 총적혈구 용적비율 등)을 Vet ABCTM으로 측정하였으며, 간 기능 검사를 위하여 분리한 혈청 내 Aspartate Transaminase(AST)와 Alanine Transaminase (ALT) 측정은 AST와 ALT 진단약을 DAICH사 제품(Japana)을 각각 구입하여, HITACHI 7600-100(HITACH CO, Japan)으로 각각 측정하였다.

5. Testosterone 호르몬의 측정

7일간 MET를 투여한 후 5주간과 15주 후에 흰쥐의 혈중 총 testosterone을 측정하였다. 즉, 혈액에서 분리한 혈청을 레오딘 생명공학연구소(www.vetlab.co.kr)에 의뢰 Coat-A-Count 방법²³⁾으로 측정하였다. 즉, Solid-phase 125I-radioimmunoassay으로써 혈청 내 testosterone량을 측정하였다. 즉, 혈청 0.1ml과 표지 항원인 125I-labeled testosterone(DPC, USA)을 testosterone의 특정항체가 부착된 polypropylene tube에 37℃에서 3시간

경쟁적으로 반응시킨 후 항체와 결합한 항원과 결합하지 않은 항원을 분리하여 Gamma counter(Cobra II, Packad, USA)에서 표준 125I의 항원량과 방사능의 관계를 표준곡선과 비교, 대비하여 매주 채취한 각 개체의 혈청 내 testosterone 량을 측정하였다.

결 과

1. 흰쥐의 체중 변화

180~200g의 수컷 흰쥐들에게 MET를 7일간 투여 후, 5주간 그리고 15주 후 있어서의 체중은 Table 2에서와 같이 관찰되었다. 즉, MET를 투여하기 전 5두의 체중을 측정 후, 5주까지 매주 2두씩 측정하였으며, 15주 후에 3두씩 측정하였던 바, MET 투여 전 5두의 평균은 193.5±2.12이였으며, MET를 7일간 투여한 직후의 체중은 195.5±0.70gm이었으나, 5주 후에는 220.5±2.12gm 그리고 15주 후에는 234.6± 13.12gm으로써 체중의 증가를 관찰하였다.

Table 1. Distribution of number of Sprague Dawley rats

Post Weeks of Administration	0	1	2	3	4	5	-	15	Total
Sacrificed No. of Rats	5	2	2	2	2	2	-	3	18

2. 흰쥐 간의 무게 변화

흰쥐에게 MET를 투여한 후, 매주 흰쥐를 희생시켜 복강 및 흉강을 절개, 심장 채혈하였으며, 간과 고환의 무게는 Table 2와 같이 측정되었다. 즉, MET투여 전의 5두의 간의 무게는 8.31±1.82gm로서 체중의 4.29%에 해당하였으며, MET를 7일간 경구 투여한 후 간의 무게는 8.09±0.06으로서 체중의 4.13%에 달하였으며, 2주, 3주 4주 그리고 5주 후의 체중과의 비율은 3.90%, 3.18%, 3.73% 그리고 2.88%에 달하였다. 15주 후에 있어서 3두의 간의 무게는 8.24±1.25gm로 체중의 3.52%에 달하였다.

Table 2. Variation of weight of liver post administration of Methoxychlor

Weight	Before Admi.	Post Weeks of Administration*					
		1 week	2week	3week	4week	5 week	15week
Body Weight	193.5 ± 2.12 (n=5)	195.5 ± 0.70 (n=2)	208.35 ± 2.75 (n=2)	208.5 ± 12.02 (n=2)	219.1 ± 0.74 (n=2)	220.5 ± 2.12 (n=2)	234.6 ± 13.12 (n=3)
Liver Weight	8.31 ± 1.82 (n=5)	8.09 ± 0.06 (n=2)	8.12 ± 0.91 (n=2)	6.63 ± 1.25 (n=2)	8.17 ± 1.76 (n=2)	6.34 ± 0.62 (n=2)	8.24 ± 1.25 (n=3)
Ratio of liver/body (%)	4.29	4.13	3.90	3.18	3.73	2.88	3.52

* MET was administrated orally 200 mg/kg body weight for 7 days

3. 흰쥐에서 고환 무게의 변화

흰쥐에게 MET를 투여 한 후 고환의 무게는 Table 3에 표시한 바와 같다. 즉, MET를 투여하기 전의 5두의 우측 고환의 무게는 1.032±0.522g이었으며, 좌측 무게는 1.16± 0.77g이며, 좌·우측의 고환의 총 무게는 2.48±1.29g에 달하였으며, MET를 투여한 1주 후의 좌·우측의 무게는 2.11±0.40g, 5주 후의 좌·우측의 총

고환의 무게는 2.61±0.14g이었으며, 15주 후에 있어서의 좌·우측의 무게는 3.00±1.13g에 달하였다. MET투여에 따른 고환과 체중의 비율은 불규칙하게 측정되었지만 체중과의 비율을 보면 MET 투여 전은 1.28%이었으며, 1주, 5주 그리고 15주 후에는 1.08%, 1.18% 그리고 1.28%으로 측정되었다.

Table 3. Ratio of testis of weight with rat body weight post administration of Methoxychlor

Weight	Post Weeks of Administration*						
	Before Admi.	1 week	2week	3week	4week	5 week	15week
Body weight	193.5 ± 2.12 (n=5)	195.5 ± 0.70 (n=2)	208.35 ± 2.75 (n=2)	208.5 ± 12.02 (n=2)	219.1 ± 0.74 (n=2)	220.5 ± 2.12 (n=2)	234.6 ± 13.12 (n=3)
Testis weight†	2.48 ± 1.29	2.11 ± 0.40	2.59 ± 0.03	2.95 ± 0.10	2.76 ± 0.12	2.61 ± 0.14	3.00 ± 1.13
Ratio of testis/body weight (%)	1.28	1.08	1.24	1.41	1.26	1.18	1.28

* MET was administered orally 200 mg/kg body weight† for 7 days.

4. 흰쥐에서의 Testosterone량의 변화

흰쥐에게 MET를 투여 전과 7일간 투여한 후부터 5주까지 매주 2두씩 그리고 15주 후에는 3두의 흰쥐를 희생, 혈청 내 testosterone 량을 측정하였던 바, Table 4에서 보는 바와 같이 측정 되었다. MET를 투여하기 전의 흰쥐의 혈청 내 testosterone량은 0.51±0.43ng/mL이었으며, MET를 7일간 투여한 후에는 0.69±0.18ng/mL, 2주 후에는 0.43± 0.21ng/mL 그리고 3주 후에는 0.28±0.05ng/mL로서 약 54% 감소되었으며, 4주와 5주 후에는 1.22±0.85와 1.20±0.95 ng/mL로서 투여 전보다 239.2%정도 증가된 량이었다. 그러나 15주 후에는 0.54±0.34(ng/mL)로서 MET를 투여하기 전의 수치와 비슷하게 나타내었다.

5. 흰쥐의 간 기능 검사

Methoxychlor을 투여한 후 흰쥐의 혈청내 AST와 ALT를 측정하였던 바 Table 5 에서와 같이 관찰되었다. 즉, MET를 투여 전 흰쥐의 간의 AST는 249±7.32IU/L이었으며, ALT는 63.2±4.67IU/L에 달하였다. MET를 7일간 투여한 후에 AST와 ALT는 각각 178.5±16.26IU/L와 48.5±10.09IU/L로 투여 전보다 낮게 나타났으나, 3주 후에는 AST의 수치가 376±199.40IU/L으로 가장 높게 나타났으며, 4주 후부터는 감소하여, 5주 후에는 222±5.65IU/L를 나타내었다. ALT는 4주 후에 62.5±7.77IU/L로 높게 나타났으나 5주 후에는 감소하여 58±7.07IU/L를 나타내었다. 그러나 15주 후에 AST와 ALT는 146.7±32.32IU/L와 57.2±15.75IU/L로 관찰되었다.

6. 혈액치의 변화

Methoxychlor를 투여한 흰쥐에서의 혈액치는 Table 6에 표시한 바와 같다. MET 투여 전 흰쥐 5두의 총 적혈구 수는 10.57±3.464 x10⁶/mm³이었으며, 총 백혈구 수는 9.28± 2.287 x10³/mm³ 그리고 적혈구 용적 비율은 47.3±0.479%이었다. MET를 투여한 7일간 투여 후의 총 적혈구는 9.37± 0.233(x10⁶/mm³)이었으며, 5주 후에는 9.56±1.103(x10⁶/mm³),

15주 후에는 10.5±0.74(x10⁶/mm³)로서 정상적인 총 적혈구수를 나타내었다. 총 백혈구 수에 있어서는 투여 전의 9.28±2.287 (x10³/mm³)에서 MET 투여 1주 후에 11.7±7.495 (x10³/mm³), 3주 후에는 23.8±5.798(x10³/mm³), 5주 후에는 9.35±0.576(x10³/mm³), 그리고 15주 후에는 11.0±4.88 (x10³/mm³)로 측정되었다. 적혈구 용적 비율은 투여한 5주 후에 있어서는 53.0±2.82%이었으며, 15주 후에는 51.25±1.70%로 측정되었다. 평균 적혈구 혈액소량은 MET 투여 전에는 15.2±1.22pg이었고, 7일간 투여한 후에는 15.8±1.55pg로 크게 차이를 보이지 않았으며 5주와 15주후에는 13.6±1.13pg과 13.8±0.37pg로서 투여 전보다 감소하였다. 또한, 평균 적혈구 혈액소량 농도에 있어서는 투여 전에는 25.5±1.05g/100ml를 나타내었고 1주 후에는 25.65±1.06 g/100ml, 5주 후에는 25.5±0.56g/100ml로 거의 차이를 나타내지 않았으며 15주 후에는 27.0±0.23g/100ml으로 증가되었다.

Table 4. Comparison testis weight(gm) with testosterone (ng/mL) of rat post administration of Methoxychlor

Rats	Post Weeks of Administration.						
	Before Admi.(n=5)	1 Week (n=2)	2 Week (n=2)	3 Week (n=2)	4 Week (n=2)	5 Week (n=2)	15Week (n=3)
Testis Weight	2.48 ± 1.29	2.11 ± 0.40	2.59 ± 0.03	2.95 ± 0.10	2.76 ± 0.12	2.61 ± 0.14	3.00 ± 1.13
Testosterone	0.51 ± 0.43	0.69 ± 0.18	0.43 ± 0.21	0.28 ± 0.05	1.22 ± 0.95	1.20 ± 0.95	0.54 ± 0.34

* MET was administered orally 200 mg/kg Body weight for 7 days.

Table 5. Aspartate Transaminase(IU/L) and Alanin Transaminase (IU/L) in Rats administrated with Methoxychlor

Enzymes	Post Weeks of Administration of Methoxychlor.						
	Before Admi. (n=5)	1 Week (n=2)	2 Week (n=2)	3 Week (n=2)	4 Week (n=2)	5 Week (n=2)	15 Week (n=3)
AST(IU/L)	249 ± 7.32	178.5 ± 16.26	232.5 ± 0.70	376 ± 199.40	216 ± 4.24	222 ± 5.65	146.7 ± 32.32
ALT(IU/L)	63.2 ± 4.67	48.5 ± 10.09	46.0 ± 9.89	58.5 ± 31.81	62.5 ± 7.77	58.0 ± 7.07	57.2 ± 15.75

* MET was administered orally 200 mg/kg Body weight for 7 days.

Table 6. Blood profiles of rat were orally administrated with Methoxychlor for 7 days

	Blood Profile				
	RBC (10 ⁶ /mm ³)	WBC (10 ³ /mm ³)	MCV(fl)	MCH(pg)	MCHC (g/100ml)
Before Adm.	10.57 ± 3.46	9.28 ± 2.28	47.3 ± 0.47	15.2 ± 1.22	25.5 ± 1.05
1 week	9.37 ± 0.23	11.7 ± 7.49	61.5 ± 3.53	15.8 ± 1.55	25.65 ± 1.06
2 week	8.825 ± 2.83	25.0 ± 20.08	66.0 ± 7.07	16.5 ± 0.84	25.65 ± 1.48
3 week	9.93 ± 0.46	23.8 ± 5.798	56.0 ± 0.0	15 ± 0.14	26.65 ± 0.07
4 week	9.69 ± 1.47	12.85 ± 0.35	52.0 ± 5.65	14.5 ± 2.40	27.75 ± 1.48
5 week	9.56 ± 1.10	9.35 ± 0.57	53.0 ± 2.82	13.6 ± 1.13	25.5 ± 0.56
15 week	10.5 ± 0.74	11.0 ± 4.88	51.25 ± 1.70	13.8 ± 0.37	27 ± 0.23

RBC : Total Red Blood Cell count, WBC: Total White Blood Cell count, MCV : Mean Corpuscular Volume MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin, MCHC : Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

고찰

자연 환경 내에는 내분비계통에 혼란을 야기시키는 화학물질의 오염에 따른 위해성에 대한 많은 관심을 갖고 있다^{1,5,20}. 화학물질에 의한 대기, 수질, 토양 등의 오염은 인간에게 직접적인 피해를 주고 있어², 이를 내분비 기능장애 물질(Endocrine Disruptors: EDs)로서 “환경호르몬”이라고 칭하고 있다. 이들 환경 호르몬 물질은 동물의 번식장애를 야기시키며^{46,25}, 사람에서는 생식기능 저하, 기형, 성장장애, 암 등을 유발시킬 수 있는 위험이 알려지고 있다^{1,2,9}. 살충제 중 DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane)는 1874년에 처음 합성되어 1939년에는 곤충 구충제로 말라리아와 같은 곤충매개 전염병을 예방하기 위하여 처음 사용되었다. 그 후 미국에서 농업용 살충제로 사용되었으나, 조류의 난각이 얽어지게 한다는 이유로 1972년 사용을 규제하였다. MET는 유기염소제 중 독성이 낮으며, 생체 내에 잔류기간이 짧아 DDT를 대신하여 사용되고 있으며⁷, MET는 채소, 사료작물 또는 조경용 풀치림 등에 살충제로서 Marlate, Chemform 그리고 Methoxy-DDT 등으로 불리우고 있으며, 1,1,1-Trichloro-2, 2-bis(methoxyphenyl ethan)의 화학구조식을 갖고 있다. 과일향의 백색의 결정체로 물에 잘 녹지 않으며, 용점은 87~88°C이며, 식물성 기름에 녹는 DDT 동족체 중에서 가장 안정성이 있다²². DDT나 DDE (2,2-bis(4-chloroethyl)-1, 1-dichloroethylene)는 사람의 혈액, 근육, 신장, 간, 피부, 부신 그리고 지방의 순 등으로 축적되며, 뇌에도 검출되고 있다⁶. 1974년 우리나라에서 포획된 조류(검은 꼬리 갈매기, 민물 도요새)나 식물에서도 DDT, BHC 등의 살충제와 수은과 같은 중금속 물질이 오염되어 있다²³. 안전하다고 믿고 있는 식물성 살충제인 pyrethroid 마저도 남성 및 여성 호르몬에 미약하지만 나쁜 영향을 미치는 것²⁴으로 알려지고 있음을 감안하건데 염소제제의 위해성에 대한 관심은 지대할 수뿐이 없다.

자연환경에서는 살충제 및 제초제 등의 농약류 외에도 내분비 계통에 장애를 야기시킬 수 있는 유기 중금속류², 식물성 에스트로젠²⁵ 그리고 Diethylstilbestrol 등이²⁶ 성 호르몬에 작용, 생기능을 저하시키고 있다. Calsen 등(1992)⁴은 환경오염 물질의 축적은 남자의 정충 수가 1940년도에는 $113 \times 10^6 / \text{ml}$ 로 측정되었으나, 1990년에는 $66 \times 10^6 / \text{ml}$ 로서 측정되어 유의적인 감소 ($P < 0.001$)를 가져왔고, 정액량도 3.40ml에서 2.75ml로 감소되었을 뿐만 아니라 번식기계의 장애(정소 압, 고환매몰증, 발육 부전)가 더 발생됨을 보고하였다. 또한 Estradiol 이나 Flutamide과 같은 물질은 정세관형성에 관여하는 남성 호르몬이나 여성 호르몬의 수용체에 영향을 미치는데¹² DDT나 DDT 대사 물질은 남성 호르몬의 수용체 부착을 억제하며, Long Evans 쥐에게 100mg/kg/day 투여 시 항 남성 호르몬작용을 하며, SD 흰쥐 수컷에서는 10mg/kg/day를 투여하면 항 남성 호르몬 작용이 실험적으로 유발된다고 하였다²⁷. MET는 DDT와 유사한 물질로서 정소 내 Leydig cell의 testosterone 생합성을 방해하는데 이 같은 testosterone의 생산억제는 cytochrome p450 cholesterol side-chain cleavage enzyme과 cholesterol 활용 저하와 직접적인 관련이 있어 수컷의 불임과 관련된 것으로 보고된 바 있다²⁸.

흰쥐에게 MET(10~200mg/kg)를 2년간 경구 투여하면 간세포와 신장, 심장, 소장 이상도 보이면서 체중 감소와 함께 성장이 지연된다는 보고가 있으나²⁹, 본 예에서는 200mg/kg을 7일간 경구투여 하여 15주간의 관찰하여도 신경증세에 이상이 없었다. MET를 1주간 투여한 후 매주 체중의 변화를 관찰하였던 바, Table 2에서 보는 바와 같이 체중에 크게 영향을 끼치지 않는 것으로 관찰되었으며, 간의 소상을 알 수 있는 AST와 ALT측정에서 투여 전·후에 있어서 큰 차이의 변화가 없었다(Table 5)

사람과 같은 포유류에 MET가 만성적으로 노출되었을 때 특별한 장기의 이상이 보이지는 않지만 피부접촉의 경우 가벼운 자극을 일으킨다. 흰쥐에서는 체중의 감소와 성장의 지연이 보고된 바 있다³⁰. 다른 유기 염소계 농약은 간과 신장에 이상을 초래한다고 한다³¹. 유아에게 영양소로서 제공되는 콩 분유 제제에도 “genistein 또는 daidzein과 같은 isoflavone인 식물성 estrogen의 체내 유입을 막아야 할 것이다³²”. 환경 호르몬성 화학물질이 실험동물에서의 역할을 밝히기 위하여 본 예에서는 단순히 testosterone량의 변동만을 측정하였지만, Hershberger assay와 uterotrophic assay 방법^{33,34}으로 환경 호르몬의 작용을 장기별로 직접 관찰하여야 할 것이다.

본 예에서는 MET를 체중 200~250g에 달하는 흰쥐에게 체중 kg당 200mg씩 매일 경구투여 하였는데 MET를 125mg/kg/day 또는 estradiol을 0.03mg/kg/day 투여하면 항 호르몬작용을 나타낸다고 하였다²⁴. 흰쥐의 사료에 적은양의 MET를 일정하게(50mg/kg/day) 투여한 경우에는 정상적인 생식기능을 나타내었으나 많은양(150mg/kg/day)의 MET를 섭취시킨 경우에는 고미 횡수가 눈에 띄게 줄어들었으며, 산자의 수도 많이 줄어들어 거의 생산되지 않았고 250mg을 투여한 경우에는 산자뿐만 아니라 태자의 형성 자체가 이루어지지 않는다는 보고가 있지만, 본 실험예의 Table 4에서 보는 바와 같이 testosterone의 양이 흰쥐에 MET를 투여하였을 경우 투여하기 전에는 0.51 ± 0.43 (ng/ml)이었으며, MET를 투여한 1주 후에는 0.69 ± 0.18 (ng/ml), 2주 후에는 0.43 ± 0.21 (ng/ml), 그리고 3주 후에는 0.28 ± 0.05 (ng/ml)로서 감소된 수치를 나타내었다. 본 예에서는 흰쥐의 생식기능에 영향을 줄 수 있는 MET의 투여량으로서 200mg/kg를 택한 것은 Latchoumycandane 등(2002)¹⁴방법에 준하였으며 정하였다. 이들 환경 호르몬의 번식기계에 미치는 영향은 Hershberger 분석 방법에 준한 연구의 필요성이 있을 것이다. 특히 흰쥐에서 MET를 노출시킨 경우 암컷에서는 자궁, 난소 등의 생식기관의 이상, 수컷에서는 고환, 전립선의 이상으로 수태율의 감소와 태자의 이상을 초래하여 호흡 마비, 피부질환 등을 일으킨다¹⁶⁻¹⁸. 개에서 체중의 감소와 혈액의 이상, 장출혈 등의 증상이 나타났으며, 돼지에서는 신장 이상이 나타났다³⁵. 본 예에 있어서 간의 체중에 대한 무게 비율에서 MET를 투여하기 전에는 4.29%를 나타냈으나 1주간 투여한 후에는 4.13%, 5주 후에는 2.88%로서 점차적으로 무게가 감소됨을 알 수 있었다. 또한, 적혈구와 MCH(%)의 수치가 감소되었지만 MET의 투여 전보다 큰 차이를 관찰 할 수는 없었다. MET를 용해시키기 위하여 올리부 유를 사용하였는데 올리부 유는 콜레스테롤 수치를 떨어뜨리

는 물질로 알려져 있으며, testosterone을 만드는 콜레스테롤인 (High Density Lipoprotein)은 높여주는 효능을 가지고 있지만 본 실험에서는 MET와 올리부유를 함께 투여하였던 바 testosterone의 수치가 감소되었다. 또한, MET를 녹이기 위하여 acetone을 넣었는데 이에 의한 흰쥐에서의 부작용은 예견되지만, 불가피하게 MET을 녹이기 위한 수용성 용제로서 쓰였지만¹⁴⁾ MET의 화학적 특성에 의한 불가피한 실험 설계이었다고 보아야 할 것이다. 성기능 장애를 일으키는 물질로서는 MET^{12, 14, 36)}를 택하였지만, 그 밖에도 Dioxine^{28,36)}, Bispheno^{20, 27)}, pyrethroid²⁸⁾ 등이 있다. 이들 물질은 대부분 체내 항산화 효소의 파괴²⁰⁾, 내분비 기능의 손상^{21,38)}, 형태학적인 변화 초래²⁵⁾, 고환의 비정상적인 발달과 정충의 형성 억제 작용^{20,36,37)}, 발기 부전¹⁶⁾, 항산화작용 저지²⁰⁾ 그리고 testosterone의 분비 기능⁴⁻⁶⁾에 많은 화학물질들이 관여하고 있는 것으로 알려지고 있다.

결론적으로 MET를 투여한 후 testosterone의 혈중농도가 투여 전으로 회복되는 데는 5주 이상 소요되고 있고, 체중감소나 혈액소견에서는 큰 피해를 가져오지 않는 것을 미루어 보아, Sprague Dawley 흰쥐에게 MET를 투여하는 실험모델을 이용하여 성기능 개선제 개발과 같은 연구에 편리하게 활용할 수 있을 것으로 기대되는 연구결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

결 론

환경 호르몬의 하나인 MET를 수컷 흰쥐에게 7일간 200mg/kg 용량으로 경구 투여하면서 혈중 testosterone량의 변화를 125I-radioimmunoassay 방법으로 측정하였던 바, MET를 투여한 1주 후에는 0.69±0.18(ng/ml), 2주 후에는 0.43±0.21(ng/ml), 그리고 3주 후에는 0.28±0.05(ng/ml)로서 감소된 수치를 나타내었으며, 15주 후에는 투여 전의 상태로 회복된 것으로 미루어 보아 실험동물의 성기능을 인위적으로 저하시킨 후 성기능 개선제의 효능을 입증하는데 유효하게 활용할 수 있는 실험 모델임을 알 수 있었다.

감사의 글

연구는 고창군의 2003년도 연구 개발비 학술용역사업으로 수행되었음

참고문헌

1. Colborn, T., Vom, Saal, F.S., and Soto, A.M.: Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wild life and humans. *Environ. Health Perspect.*, 101, 378-384. 1993.
2. Harrison, P.T. Holmes, P., Humfrey, C.D.: Reproductive health in humans and wildlife: are adverse trends associated with environmental chemical exposure? 205, 97-106. 1977.
3. Heindel, J.J.: Toxicological highlight endocrine disruptors and

- obesity epidemic. *Toxicological Sciences*, 76:247-249. 2003.
4. Carlsen, E., Giwercman, A., Keiding, N., Skakkebaek, N.E.: Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *B. M. J.*, 12, 609-613. 1992.
5. Swan, S.H., Elkin, E.P., Fenster, L.: Have sperm densities decline? A reanalysis of global trend data. *Environ Health Perspect*, 105:1228-1232. 1997.
6. Leavens, T.L., Sparrow, B.R., Devito, M.J.: Lack of antiandrogenic effects in adult male rats following acute exposure to 2,2-bis(4-chlorophenyl)-1, 1-dichloroethylene (p,p'-DDE). *Toxicology*, 174:69-78. 2002.
7. Smith, E., Andrew, G.: Chlorinated Hydrocarbon Insecticides. in *Handbook of Pesticide Toxicology, Volume 3, Classes of Pesticides*. Wayland J. Hayes Jr. and Edward R. Lows, Jr. editors. Academic Press, Inc., NY. 1991.
8. Chapin, R.E., Harris, M.W., Davis, B.J., Ward, S.M., Wilson, R.E., Mauney, M.A., Lockhart, A.C., Smialowicz, R.J., Moser, V.C., Burka, L.T., Collins, B.J. : The effects of perinatal/juvenile methoxychlor exposure on adult rat nervous, immune, and reproductive system function. *Fundum Appl. Toxicol.*, 40, 138-157. 1997.
9. Stresser, D.M., Kupfer, D.: Human cytochrome P450-catalyzed conversion of the proestrogenic pesticide methoxychlor into an estrogen. Role of CYP2C19 and CYP1A2 in o-Demethylation. *Drug Metabolism and disposition*, 26:868-874. 1998.
10. Reuber, MD: Carcinogenicity and toxicity of methoxychlor. *Environ Health Perspec*, 36:205-219. 1980.
11. Sharpe, R.M., Skakkebaek, N.E. : Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Environ Health Perspect*, 341:1392-1395. 1933.
12. Cupp, A.S., Skinner, M.K. : Actions of endocrine disruptor methoxychlor and its estrogenic metabolite on in vitro embryonic rat seminiferous cord formation and perinatal testis growth. *Reproductive Toxicology.*, 15, 317-326, 2001.
13. Danzo, B.J. : The effects of environmental hormones on reproduction. 54, 1249-64. 1988.
14. Latchoumycandane, C., Chitra, K.C., Mathur, P.P. : The effect of methoxychlor on the epididymal antioxidant system of adult rats. *Reproductive Toxicology*. 16, 161-172. 2002
15. Blizard, D., Sueyoshi, T., Negishi, M., Dehal, S.S., Kupper D. : Mechanism of induction of cytochrome P450 enzymes by the proestrogenic endocrine disruptor pesticide-Methoxychlor: Interactions of Methoxychlor metabolite with the constitute androgene receptor system. *Drug Metabolism and disposition*, 29, 781-785. 2001.

16. Gray, L.E., Jr., Ostby, J., Cooper, R.L., Kelce, W.R. : The estrogenic and antiandrogenic pesticide methoxychlor alters the reproductive tract and behavior without affecting pituitary size or LH and Prolactin secretion in male rats. *Toxicol Ind Health*, 15, 37-47. 1999.
17. Kang, H, G, Jeong, S, H, Cho, J, H, Kim, D, G, Park, J, M, Cho, MH : Chlropyrifos-methyl shows anti-androgenic activity without estrogenic activity in rats, 199, 219-30. 2004.
18. Martinez, E.M., Swartx, W.J.: Effects of methoxychlor on the reproductive system of the adult female mouse: 1. Gross and histologic observations. *Reproductive Toxicology*. 5, 139 -147. 1991.
19. Ismail, A.A., Astley, P., Burr, W.A., Cawood, M., Short, F., Wakelin, K., Wheeler, M.J.:The role of testosterone measurement in the investigation of androgen disorders. *Ann. Clin. Biochem.* 23 (Pt2):135-45. 1986.
20. Chitra, K.C., Latchoumycandane, C., Mathur, P.P.: Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology*, 185, 119-127, 2003.
21. Chia, S.E.: Endocrine disruptors and male reproductive function - a short review. *Int. J. Androl.*, 23, 45-46, 2000.
22. The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 11th ed. Ed. S. Budavari. Merck and Co. Inc.,ahway,NJ. 1989.
23. Kwon, SP, Jung, Y, Yang, JM, Kim, MH: Persistent chemicals in birds and herbs in Korea. *Yonsei Medical Journal.*, 17:21-29. 1976.
24. Kunimatsu, T., Yamada, T., Ose, K., Sunami, O., Kaita, Y., Okuno, Y., Seki, T., Nakatsuka, I. : Lack of (anti-) androgenic or estrogenic effects of three pyrethroids(Esfenvalerate, Fenvalerate, and Permethrin) in the hersherberger and uterotrophic assays. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 35:227-237. 2002.
25. Delclos, K.B., Bucci, T.J., Lomax, .LG., Latendresse, J.R., Warbr- itton, A., Weis, C.C., Newbold, R.P. : Effects of dietary genistein exposure during development on male and female CD(Sprague-Dawley) rats. *Reprod. Toxicol.*, 15, 647-663, 2001.
26. Kelce, W.R., Lambright, L.R., Gray, L.E., Roberts, K.P. : Vinclozolin and p,p'-DDE alter androgen-dependent gene expression: in vivo confirmation of an androgen receptor-mediated mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 142:192-200. 1997.
27. You, L., Casanova, M., Chan, Archibeque-Engle, S. Madhabananda, S., Fan, L., Heck, H.A. : Impaired male sexual development in perinatal Sprague-Dawley and Long-Evans hooded rats following in utero exposure to p,p'-DDE. *Tox. Sci.*, 45:162-173. 1998.
28. Akingbemi, B.T., Ge Ren-Shan, Klinefelter, G.G., Gunsalus, G., Hardy, M.P. : A metabolite of methoxychlor, 2,2-Bis(p-Hydr-oxypheny)-1,1,1- trichloroethane, reduces testosterone biosynthesis in rat Leydig cells through suppression of steady-state messenger ribonucleic acid levels of the cholesterol side-chain cleavage enzyme. *Biology of Reproduction*, 62, 571-578. 2000.
29. Goldman, J.M., Cooper, R.L., Rehnberg, G.L., Hein, J.F., McElroy, W.K., Gray, L.E. : Effects of low subchronic doses of methoxychlor on the rat hypothalamic-pituitary reproductive axis. *Toxica Appl Pharmacol.*, 86, 474-483. 1986.
30. U.S EPA(Environmental Protection Agency) Health Advisory Summaries. Methoxychlor. Office of Water. 1989.
31. Maness, S.C. , McDonnel, D., Gaido, K.W. : Inhibition of androgen receptor-dependent transcriptional activity by DDT isomers and met- hoxychlor in HepG2 human hepatoma cells. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 151, 135-42. 1998.
32. Greim, H.A. : The endocrime and reproductive system: Adverse effects of hormonally active substances? *Pediatrics*. 113: 1070-1075. 2004.
33. Sunami, O., Kunimatsu, T., Yamada, T., Yabushita, S. Sukata, T., Miyata, K., Kamita, Y., Okuno, Y., Seki, T., Nakatsuka, I., Matsuo, M. : Evaluation of a 5-day Hersherberger assay using young mature male rats: Methyltestosterone and p,p'-DDE, but not fenitrothion, exhibited androgenic or antiandrogenic activity in vivo.
34. Yamada, T., Sunami, O., Kunimatsu, T., Kamita, Y., Okuno, Y., Seki, T. Nakatsuka, I , Matsuo, M. : Dissection and weighing of accessory sex glands after formalin fixation, and a 5-day assay using young maturs rats are reliable and feasible in the Hersherberger assay. *Toxicology*, 162: 103-119. 2001. *J. Toxicol. Sci.*, 25:403-415. 2000.
35. International Agency for Research on Cancer(IARC). IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans : Some Halogenated Hydr ocarbons. World Health Organization, Lyon. Volume 20. 1979.
36. Ohsako, S, Miyabara, Y, Sakaue, M, Ishimura, R, Kakeyama, M, Izumi, H, Yonemoto, J, Tohyama, C. : Developmental stage - specific effects of perinatal 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure on reproductive organs of male rat offspring. *Toxicological Science*, 66, 283-292. 2002.
37. U.S. Department of Health and Humen Services. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS, online da tabase). National Toxicology Information Program, National Library of Medicine, Bethesda, MD. 1993.
37. U.S EPA(Environmental Protection Agency). Methoxychlor Health Advisory. Office of Drinking Water, Washington, DC. 1987.