

Bisphenol A 노출과 소아비만

이빛나, 신혜정¹, 나현경, 이나경, 양미희*

숙명여자대학교 약학대학, ¹국립의료원 건강증진센터 소아청소년팀

Bisphenol A Exposure and Childhood Obesity

Bitna Yi, Hye Jung Shin¹, Hyunkyung Na, Na Kyung Lee and Mihi Yang*

Sookmyung Women's University College of Pharmacy, Seoul 140-742, Korea

¹National Medical Center, Seoul 100-799, Korea

ABSTRACT

Over the a few decades, the incidences of obesity and associated metabolic syndrome diseases have been increased dramatically and resulted in a global health crisis. Recent findings suggest endocrine disrupting chemicals (EDCs) as an obesogen, because they disrupt normal development and homeostatic controls over adipogenesis and energy balance in obesity. Furthermore, risk of cardiovascular disease and mortality is elevated among those who were obese during childhood. Thus, we focused on etiology of obesity in children and performed biological monitoring of bisphenol A (BPA), which is a broadly exposed EDC in environment. Study subjects were age and sex-matched obese and normal children in Seoul (N=52; age, 8.67 ± 1.46 years). Exposure levels of BPA were analyzed with HPLC/FLD as a conjugated form in urine. As results, ranges of urinary BPA were 0 ~ 54.38 µg/g creatinine (median, 4.57 µg/g creatinine). Levels of urinary BPA were 1.7 fold higher in the obese children than those in the controls (medians of obese and control children, 7.31 and 4.25 µg/g creatinine, respectively, p=0.22). In the near future, enlarge scaled studies should be performed to confirm the risk of BPA for obesity.

Key words : bisphenol A, children, obesity, obesogen, biological monitoring

서 론

전 세계적으로 비만은 지속적인 증가 추세를 보이고 있다. 한국의 경우, 국민건강영양조사에 따르면 성인 비만율은 1998년, 2001년, 2005년에 걸쳐 각각 26.3%, 29.6%, 31.7%로 꾸준히 증가하여, 현재 30%를 넘어섰다(국민건강영양조사, 2005). 또한, 성

인과 함께, 소아청소년에서도 비만율이 급증하여, 1998년 소아청소년 전체의 7.2%이었던 소아청소년에서의 비만 인구가 2005년에는 2배 가까이 증가한 12.0%를 차지하였다(국민건강영양조사, 2005). 비만은 당뇨, 고지혈증, 고혈압, 심혈관계 질환 등을 포함한 성인병의 대표적인 원인이 되기 때문에 위와 같은 비만 인구의 증가는 심각한 보건 문제로 떠오르고 있다. 특히, 소아청소년기의 비만의 경우, 고지혈증, 고혈압, 탄수화물 대사 장애, 고지혈증 등의 합병증을 동반할 수 있으며 성인 비만으로 이행되는 경우가 많다. 또한 또래집단의 신체적 놀림이나 따

* To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-2-2077-7179, Fax: +82-2-710-9871
E-mail: myang@sm.ac.kr

돌림에 의해 감정 발달에 부정적인 영향을 줄 수 있다(Must and Strauss, 1999).

오늘날 비만의 증가 요인을 현대인의 식습관, 생활환경 변화에 따른 과잉 열량 섭취와 운동 부족 이외에 화학물질 환경(chemical environment)의 변화에서 찾는 시각이 새로이 등장하고 있다(Newbold *et al.*, 2007). 또한, 화학물질의 증가 시기는 비만 인구의 증가 시기와 겹치며, 새로운 화학물질이 체내의 지질 합성, 대사 또는 에너지 평형에 영향을 미침으로써 비만을 일으킬 가능성이 제기되었다(Baillie-Hamilton, 2002). 특히, 독성 화학물질의 상당 부분을 차지하는 내분비계 장애물질(endocrine disrupting chemicals, EDCs)은 호르몬 유사 물질로서 소량으로도 체내 항상성을 교란시킬 수 있으므로, 호르몬 수용체를 지닌 지질 조직의 대사를 교란시킬 가능성을 간과할 수 없다(Grun and Blumberg, 2006). 따라서, 비만에 영향을 미치는 비만유발 환경호르몬이라는 의미의 '오베소겐(obesogen)'이라는 신개념이 등장하였고, bisphenol A (BPA), diethylstilbestrol (DES), phthalates 등이 이 호르몬 수용체 신호전달계에 영향을 미쳐 비만을 유발하는 '오베소겐'이라는 가능성이 제기되었다(Grun and Blumberg, 2007). 또한, 여러 동물 실험 및 *in vivo* 실험에서 태아기 또는 일생 동안 내분비계 장애물질의 노출이 지질 대사에 영향을 미친다고 보고된 바가 있다(Rubin *et al.*, 2001; Nikaido *et al.*, 2004; Newbold *et al.*, 2005). 그러나, 태아의 발달 단계에서는 내분비계 장애물질 중 일부만이 비만을 촉진할 가능성이 있으며, 성인에서는 오히려 지방 합성을 억제하는 것으로 나타나 이에 대한 연구가 더 필요한 실정이다(Heindel, 2003).

BPA [2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane, CAS# 80-05-7]는 플라스틱과 에폭시 수지의 생산에 사용되는 단량체로, 오늘날 식품포장재를 비롯하여 캔, 우유병, 치과용 수지 등에 다양하게 이용되어, 일상생활을 통해 쉽게 노출될 수 있는 내분비계 장애물질이다. 실제 본 연구진이 한국인을 대상으로 수행한 BPA 인체 모니터링 연구에서 피험자 소변 중 97.5%의 시료에서 BPA가 검출된 바 있어, BPA의 폭 넓은 일반인의 노출에 대한 건강 영향이 우려되고 있다(Yang *et al.*, 2006). BPA는 에스트로겐 활성을 가지며 생식계 장애, 면역계 위해, DNA adduct 형성 등과 관련된 것으로 알려져 있고(Atkinson and Roy,

1995; Kobayashi *et al.*, 2002; Honma *et al.*, 2002; Sawai *et al.*, 2003) 최근에는 BPA와 비만의 관련도 보고되고 있다(Baillie-Hamilton *et al.*, 2002; Heindel *et al.*, 2003; Newbold *et al.*, 2008). 동물 실험에서 BPA는 분화된 지방 세포로의 당 유입을 촉진한 바 있으며(Sakurai *et al.*, 2004) 인슐린과 함께 투여할 때, 섬유아세포를 지방세포로 분화시키는 경향이 보고되었다(Masuno *et al.*, 2002). 또한, 주산기와 출산 직후 단계의 쥐에서 BPA의 노출에 의해 지방 조직의 질량이 증가되었다고 보고된 바 있다(Miyawaki *et al.*, 2007). 그러나 난소가 제거된 성인 암컷 쥐에서는 BPA 노출에 의해 체질량지수(BMI)의 증가가 현저히 억제된 보고도 있어(Nunez *et al.*, 2001), 태아의 발달 단계와 성인 단계, 즉, 노출 시점에서 그 작용의 차이를 보였다. 인체의 경우, BPA는 지방조직과 지방 세포로부터 비만 관련 질환의 가능성을 낮추는 것으로 알려진 adiponectin의 방출을 억제하는 것으로 알려져 있다(Hugo *et al.*, 2008).

한편, 혈청 BPA 농도가 일반 여성보다 비만 여성에서 더 높게 나타난 보고(Takeuchi *et al.*, 2004)를 제외하면, 비만과 관련한 BPA 인체 노출 모니터링 연구는 매우 부족한 실정이다. 더욱이 소아비만은 소아가 EDC에 고 감수성 인구인 점, 향후 성인병으로의 진행가능성 및 우리 사회의 성인병 관련 사회·경제적 부담 등을 고려할 때, 소아비만의 병인으로서 위험성이 우려되는 EDC의 영향연구가 시급한 실정이다(Bearer, 1995; Fitzgerald *et al.*, 1998). 따라서, 본 연구는 BPA 노출 모니터링을 통하여 BPA 노출과 소아비만의 상관관계를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상자 및 시료채집

피험자는 서울시 소재 초등학교 학생 중 건강검진에 참여한 소아 자원자로, 소아의 소변 약 15 mL를 BPA 오염이 없음을 확인한 코니컬 튜브(이 등, 2009)에 채집하였다.뇨는 수집 후, 즉시 -80°C 에 냉동상태를 유지하여 center(숙대약대 독성학교실)로 운반되어 분석 전까지 -80°C 에 보관하였다. 본 연구는 소아와 그 부모로부터 동의를 얻었고 국립의료원 IRB (Institutional Review Board)를 통과하였다. 이하 BPA분석은 성과 나이를 일치하고 무작

위 추출한 각 26명의 정상, 비만군에서 수행하였다.

2. 뇨 중 BPA 분석

본 연구진이 확립한 분석법에 따라(Yang *et al.*, 2003) 분석대상물질인 BPA를 내부표준물질인 bisphenol B (BPB, Tokyo Chemical Industry Company, Tokyo, Japan)와 상대정량하여 역상 HPLC/FLD 법으로 분석하였다. 우선, 소변 시료 1 mL를 취해 15 mL 공전 초자 시험관에 넣고, 이에 1 µg/mL 농도의 BPB 0.1 mL를 가하였다. 이어, 반응액에 2.0 M sodium acetate 60 µL, β-glucuronidase 48 µL (2,784 U) (Type H-1, Sigma)를 가하고 진탕 항온수조(37°C, 5시간)에서 배양하였다. 배양 후, 2 N 염산을 200 µL 가한 후, ethylacetate 5 mL를 첨가하여 추출, 원심분리하여 상층액 2 mL 취하는 액-액 추출을 2회 반복하였다. 모아진 상층액 4 mL은 진공 농축하여 60% acetonitrile 300 µL에 녹인 후, 원심분리하여 상층액을 취하고 그 중 20 µL를 HPLC에 주입하여 total BPA (free+conjugated form)을 정량하였다.

유리형 (free form)의 BPA는 β-glucuronidase 대신 동량의 증류수를 가하여 동일한 과정으로 분석하였다.

뇨 시료의 creatinine 보정은 Ogata-Taguchi 법(1988)에 따라 creatinine을 분석하고 보정에 적용하였다. 분석 시스템은 dual Younglin SP930D pumps (Younglin, Seoul, Korea), MIDAS COOL autosampler (Spark Holland, Emmen, The Netherlands), Jasco FP-2020 plus Fluorescence Detector (Jasco, Great Dunmow, UK), X-Terra C18 column (5 µm, 4.6 × 250 mm, Waters, Wexford, Ireland)로 구성되었다. 기울기 용리법 (개시, 물: acetonitrile, 75:25; 45분, 45:55; 50분, 75:25; 60분, 75:25)으로 유속조건 1 mL/min, 형광 여기파장 225 nm, 방출파장 305 nm에서 분석하였다.

3. 통계분석

정상아동과 비만아동의 성별 비교에는 Fisher's Exact test 2-tail를 하였으며, 연령, 키 등의 비교에는 ANOVA를 하였다. 뇨 중 BPA 농도와 성별, 비만 유무 관계는 Wilcoxon test로 분석하였다.

본 연구에서 모든 통계분석에 JMP Version 4 (SAS Institute, Cary, NC, USA)를 사용하였으며, 통계적 유

의는 $p < 0.05$ 로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 피험자 특성

피험자의 특성은 Table 1과 같다. 피험자의 총 인원은 52명으로, 비만아동과 정상아동의 수는 각각 26명이었다. 전체 성비에서 남아가 여아보다 다소 많았고, 평균 나이는 약 9세였다. 평균 신장에서 비만아동과 정상아동 간에 유의한 차이가 없었고, 다만, 체중과 BMI에서 유의적인 차이가 있었다. 비만 기준은 성별 연령별 체질량지수가 95백분위수 이상인 경우로 정의하였으며 BMI의 분포는 비만아동에서는 17.5~28.4 kg/m²이었으며, 정상아동에서는 12.5~19.7 kg/m²로 나타났다.

Table 1. Characteristics of the subjects

Item (unit)	Obese (N=26)	Normal (N=26)	p value
Sex (N (%))			
Male	15 (58)	15 (58)	1.00 ^a
Female	11 (42)	11 (42)	
Age (yrs)	8.65 ± 1.49	8.69 ± 1.46	0.93 ^b
Height (cm)	127.82 ± 10.09	125.12 ± 8.19	0.29 ^b
Weight (kg)	34.48 ± 10.52	24.63 ± 5.69	< 0.01 ^b
BMI (kg/m ²)	20.61 ± 3.10	15.53 ± 1.75	< 0.01 ^b

^aFishehr's Exact test 2-tail

^bANOVA

2. 뇨 중 BPA의 분포

뇨에서 BPA를 분석한 결과, 검출된 시료에서 유리형을 분석한 결과, 유리형 BPA는 검출되지 않았다. 따라서, 본 피험자의 BPA 노출은 모두 conjugated form으로 존재하며 뇨 중 분포는 Fig. 1과 같이 왼쪽으로 치우치는 분포를 나타내어 정규분포를 따르지 않았다. 이하 BPA level 통계분석에서는 비모수 통계법을 수행하였다.

뇨 중 BPA 농도의 중간값은 4.58 µg/g creatinine (0~54.38 µg/g creatinine)로, 2006년 본 연구진에 의해 한국인을 대상으로 수행한 BPA 바이오모니터링 결과(N=172; 0.0005~243.43 µg/g creatinine; 중간값, 14.93 µg/g creatinine)와 비교해 볼 때 (Yang *et al.*, 2006), 본 인구 집단에서 BPA 노출은 다소 낮은

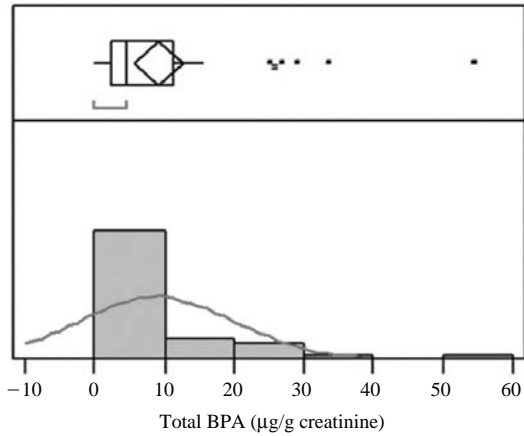


Fig. 1. Distribution of urinary BPA levels (µg/g creatinine): Upper part of the figure shows an outlier box plot with the square in the box showing the interquartile range: x=level of BPA; y= frequency

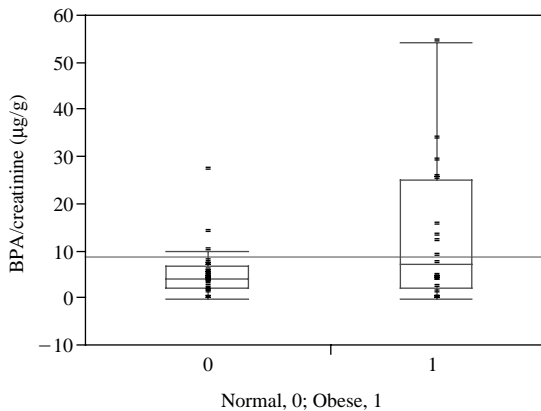


Fig. 2. Comparison of urinary BPA levels (µg/g creatinine) between cases and controls (P=0.22): median for cases, 7.31 µg/g creatinine; median for controls, 4.25 µg/g creatinine).

것으로 추정된다.

또한, 성별에 따른 뇨 중 BPA 농도차이는 관찰되지 않았다(남아, 중간값, 4.75 µg/g creatinine, 여아, 중간값, 4.31 µg/g creatinine, p=0.98).

BPA의 검출한계 (LOD)는 0.4 µg/L였으며, 통계 및 환산을 위하여 불검출 시료에 대하여 최소값 (1.35 µg/L)의 10분의 1값(0.135 µg/L)을 적용하였다.

3. 뇨 중 BPA 농도와 비만과의 상관성

뇨 중 BPA 농도와 비만과의 상관성을 조사할 결과, 비만아동의 뇨 중 BPA 농도는 정상아동의 것보다 높은 경향을 보였으나(Fig. 2), 유의적인 차이는 없었다(비만아동, 중간값, 7.31 µg/g creatinine; 정상아동, 중간값, 4.25 µg/g creatinine, p=0.22). 이에 관련하여 현재까지 국내외적으로 참고할만한 소아비만과 BPA 노출량과의 상관관계에 관한 연구는 전무한 실정이다. 다만, 성인 비만과 BPA 노출 상관관계를 살핀 다른 연구를 살펴보면 일본의 비만여성(N=19)과 정상여성(N=7)의 혈중 BPA를 측정하여 비교하였을 때, 비만여성의 혈중 BPA 농도가 유의적으로 높았다는 보고가 있다(비만여성, 1.04 ± 0.09 ng/mL; 정상여성, 0.71 ± 0.09 ng/mL: Takeuchi *et al.*, 2004). 또한, 미국 인구(N=1,455)를 대상으로 한 보고에서 뇨 중 BPA 농도와 비만도 지수(BMI)의 상관관계가 유의하지 않게 나타나지 않다고 보고되었다(Lang *et al.*, 2008). 따라서, BPA 노출과 소아비만과의 상관관계, 나아가 BPA 노출이 소아비만관련 질환에 미치는 건강 위해에 대하여 보다 집중적인 연구가 필요하다고 사료된다.

결론

본 연구진은 내분비계 장애물질인 BPA의 소아비만에 미치는 건강위해를 조사하기 위하여 서울 소재 초등학교에 재학 중인 소아를 대상으로 BPA 노출 모니터링을 실시하고, 소아의 비만여부와 그 상관성을 분석하였다. 그 결과, 전체 피험자 소아의 뇨 중 BPA 농도는 중간값이 4.57 µg/g creatinine (N=52; 0~54.38 µg/g creatinine)이었다. 이는 이전에 본 연구진에 의해 수행된 BPA 노출 모니터링 결과보다 낮은 수준이었다.

소아의 비만 여부와 뇨 중 BPA 농도와의 비교에서는 비만아동의 뇨 중 BPA 농도는 정상아동의 뇨 중 BPA보다 다소 높은 경향을 보였으나 유의적이지 않았다. 그러나, 피험자 수 등 본 연구의 제한점을 고려하고, 소아비만의 사회적 심각성, *in vivo* 및 동물실험을 통해 보고 되고 있는 BPA와 소아비만과의 상관관계 등을 고려할 때, 향후 BPA의 건강 위해 종말점으로서 그 노출과 소아비만의 상관관계

에 관한 보다 집중적인 연구가 필요함을 제안한다.

참 고 문 헌

- 이호선, 신혜정, 양미희. Bishpenol A와 인체 위해 연구를 위한 시료 용기에 대한 재고, 대한암예방학회지 2009; 14: 208-211.
- 질병관리본부. 제3기 국민건강영양조사(KNHANES III), 2005.
- Atkinson A and Roy D. In vivo DNA adduct formation by bisphenol A, *Environ Mol Mutagen* 1995; 26(1): 60-66.
- Baillie-Hamilton PF. Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic, *J Altern Complement Med* 2002; 8(2): 185-192.
- Bearer CF. How are children different from adults? *Environ Health Perspect* 1995; 103 Suppl 6: 7-12.
- Fitzgerald EF, Schell LM, Marshall EG, Carpenter DO, Suk WA and Zejda JE. Environmental pollution and child health in central and Eastern Europe, *Environ Health Perspect* 1998; 106(6): 307-311.
- Grun F and Blumberg B. Environmental obesogens: organotins and endocrine disruption via nuclear receptor signaling, *Endocrinology* 2006; 147 Suppl 6: S50-55.
- Grun F and Blumberg B. Perturbed nuclear receptor signaling by environmental obesogens as emerging factors in the obesity crisis, *Rev Endocr Metab Disord* 2007; 8(2): 161-171.
- Heindel JJ. Endocrine disruptors and the obesity epidemic, *Toxicol Sci* 2003; 76(2): 247-249.
- Honma S, Suzuki A, Buchanan DL, Katsu Y, Watanabe H and Iguchi T. Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction, *Reprod Toxicol* 2002; 16(2): 117-122.
- Hugo ER, Brandebourg TD, Woo JG, Loftus J, Alexander JW and Ben-Jonathan N. Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes, *Environ Health Perspect* 2008; 116(12): 1642-1647.
- Kobayashi K, Miyagawa M, Wang RS, Sekiguchi S, Suda M and Honma T. Effects of in utero and lactational exposure to bisphenol A on somatic growth and anogenital distance in F1 rat offspring, *Ind Health* 2002; 40(4): 375-381.
- Lang IA, Galloway TS, Scarlett A, Henley WE, Depledge M, Wallace RB and Melzer D. Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults, *JAMA* 2008; 300(11): 1303-1310.
- Masuno H, Kidani T, Sekiya K, Sakayama K, Shiosaka T, Yamamoto H and Honda K. Bisphenol A in combination with insulin can accelerate the conversion of 3T3-L1 fibroblasts to adipocytes, *J Lipid Res* 2002; 43(5): 676-684.
- Miyawaki J, Sakayama K, Kato H, Yamamoto H and Masuno H. Perinatal and postnatal exposure to bisphenol a increases adipose tissue mass and serum cholesterol level in mice, *J Atheroscler Thromb* 2007; 14(5): 245-252.
- Must A and Strauss RS. Risks and consequences of childhood and adolescent obesity, *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23 Suppl 2: S2-11.
- Newbold RR, Padilla-Banks E, Snyder RJ and Jefferson WN. Developmental exposure to estrogenic compounds and obesity, *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005; 73(7): 478-480.
- Newbold RR, Padilla-Banks E, Snyder RJ, Phillips TM and Jefferson WN. Developmental exposure to endocrine disruptors and the obesity epidemic, *Reprod Toxicol* 2007; 23(3): 290-296.
- Newbold RR, Padilla-Banks E, Jefferson WN and Heindel JJ. Effects of endocrine disruptors on obesity, *Int J Androl* 2008; 31(2): 201-208.
- Nikaido Y, Yoshizawa K, Danbara N, Tsujita-Kyutoku M, Yuri T, Uehara N and Tsubura A. Effects of maternal xenoestrogen exposure on development of the reproductive tract and mammary gland in female CD-1 mouse offspring, *Reprod Toxicol* 2004; 18(6): 803-811.
- Nunez AA, Kannan K, Giesy JP, Fang J and Clemens LG. Effects of bisphenol A on energy balance and accumulation in brown adipose tissue in rats, *Chemosphere* 2001; 42(8): 917-922.
- Ogata M, Taguchi T. Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated high performance liquid chromatography, *Int Arch Occup Environ Health* 1988; 61(1-2): 131-140.
- Rubin BS, Murray MK, Damassa DA, King JC and Soto AM. Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels, *Environ Health Perspect* 2001; 109(7): 675-680.
- Sakurai K, Kawazuma M, Adachi T, Harigaya T, Saito Y, Hashimoto N and Mori C. Bisphenol A affects glucose transport in mouse 3T3-F442A adipocytes, *Br J Pharmacol* 2004; 141(2): 209-214.
- Sawai C, Anderson K and Walser-Kuntz D. Effect of bisphenol A on murine immune function: modulation of interferon-gamma, IgG2a, and disease symptoms in NZB X NZW F1 mice, *Environ Health Perspect* 2003; 111(16): 1883-1887.

- Takeuchi T, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Takai Y and Taketani Y. Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction, *Endocr J* 2004; 51(2): 165-169.
- Yang M, Kim SY, Lee SM, Chang SS, Kawamoto T, Jang JY and Ahn YO. Biological monitoring of bisphenol a in a Korean population, *Arch Environ Contam Toxicol* 2003; 44(4): 546-551.
- Yang M, Kim SY, Chang SS, Lee IS and Kawamoto T. Urinary concentrations of bisphenol A in relation to biomarkers of sensitivity and effect and endocrine-related health effects, *Environ Mol Mutagen* 2006; 47(8): 571-578.