Kor. J. Food Hygiene 5 (4), 179-186 (1990)

단기 발암성 검색법을 이용한 축산식품에 잔류할수 있는 합성홀몬의 발암촉진효과에 대한 연구

임윤규 · 강경선 · 이영순

서울대학교 수의과대학 공중보건학교실

Promotive Effects of Several Synthetic Hormones Using Short-Term Carcinogen Screening Method

Yoon-Kyu Lim, Kyung-Sun Kang and Yong-Soon Lee

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, 103, Seodun-Dong, Suwon, 440-744

ABSTRACT—This study was performed for assessing carcinogenicity of several synthetic hormones; Diethylstilbesterol (DES), 17-ethinylestradiol (EE_2) and Bovine somatotrophin (BST).

Six weeks old F344 rats were divided into five groups and given an intraperitoneally injection of 200 mg of diethylnitrosamine (DENA). At two week after beginnig of experiment, DES, EE_2, BST, Phenobarbital were administered to group 1, 2, 3 and 4 respectively, group 4 is positive control and group 5 is negative control. At the same time, all groups received a single i.p. injection of D-galactosamine at a dose of 300 mg/kg and underwent 2/3 partial hepatectomy at week 5. All rats were sacrificed at the end of week 8 for assessment of liver lesion development. The liver was processed for immunohistochmical staining for GST-P and quantitatively analyzed by image analyzer.

It was concluded that two synthetic estrogen hormones (DES, EE_2) was different significantly ($p<0.01$) but BST was not different as compared with control group. Therefore, we thought that DES, EE_2 was promoting effects and BST was not in rat hepatocarcinogenesis.

Keywords□DEN-Galactosamine-PH model, Fisher344, Bovine somatotrophin, Diethylstilbesterol, Ethinylestradiol.

우리나라는 1960, 70년대의 고도의 경제성장기를 거쳐왔으며, 이를 바탕으로 1980년대 후반부터는 선진화의 대열에 진입해감에 따라 미국을 비롯한 주요수출대상국들이 이제는 한국을 관세특혜를 주던 개발도상국이 아니라 국민소득 5000$대의 준선진국으로의 인식전환으로 자국의 수입규제와 아울러 우리나라에 수입자유화를 강력히 요구하고 있어 심각한 무역마찰속에서 수입규제의 완화뿐만 아니라 수입을 자유화 하지 않으면 안될 실정에 놓여 있게 되었다. 특히 농·축산분야는 우리나라의 영세성과 더불어 이들 분야의 강한 수입개방반대로 지금까지는 극히 한정해서 개방을 해왔으나, 1990년 우루과이 라운드 회의로 우리나라는 농·축산분야에서 전면 개방을 하지 않을 수 없는 상황이 되었고, 국내적으로는 과거 10년동안 국민 식생활의 다양화와 질적향상으로 인하여 축산물의 수요가 현저히 증대되어 왔기 때문에 외국의 농축산물들을 수입하지 않을 수 없는 상황이되었다. 이러한 상황에서 특히 수입축산물중에 잔류해서 사람에게 해를 줄수 있는

Received for publication 26, November, 1990
Reprint request; Dr. Y.K. Lim at above address

물질들이 많이 있는데, 그 중 홀몬제재는 반추수에서 비육 및 비유효과가 현저하고 경제성도 있기 때문에 인위적으로 합성 할 수 있게 되었으며, 최근 유전공학적 방법의 개발로 이들 홀몬을 대량생산 할 수 있게 되어 그 사용이 증가추세에 있다.

이러한 성장촉진 홀몬중 DES(Diethylstilbesterol)과 BST(Bovine somatotrophin)가 그 대표적인 예라 할 수 있다.

DES는 1950년대 부터 성장촉진을 위해 널리 사용되어져 왔으나 1938년 발암성이 처음 보고된 이래로 계속된 연구에서 랫드, 마우스, 햄스타 등에서 발암성이 보고되고 있고(George H. 등, 1964 ; J.A. Mclachlan등, 1975 ; Lan R. Wanless등, 1982 ; Jonathan J.L. 등, 198 yasuo Himeno 등, 1989), 소고기 등에서 DES의 잔류가 보고되고 있어(P.W. Aschbacher등, 1974 ; William H. 등, 1974), 1973년에 이미 미국 FDA에서는 소의 성장촉진을 위한 DES의 사용을 금지하였다(William H 등, 1974).

한편, BST는 지금현재 미국 FDA에 승인하고는 있지만 국내는 물론 국외에서 그 사용과 위해여부에 대해서 논란이 되고 있다. 그러나 이러한 논란과 위해성에도 불구하고 이러한 홀몬등에 의한 증제효과와 경제성을 고려해 볼때 수출국들이 수출 축산물 등에 다량 사용할 수 있다(Bauman등, 1986 ; Hart등, 1979 ; Denamur, 1971).

따라서 본 연구는 DEN-Galactosamine-PH 법의 유용성을 확인하고 수입축산물에 잔류해서 인체에 위해를 줄 수 있는 성장촉진홀몬과 경구피임제로 사용하는 에스트로겐홀몬의 발암성을 좀 더 짧은 기간(8주)에 밝혀 봄으로써 국민건강증진에 기여함과 동시에 현재 국내·외에서 논란이 되고 있는 BST에 대한 독성여부를 밝히는 실험의 일환의 하나로 BST가 발암성이 있는지를 밝히는데 있다.

재료 및 방법

실험동물－한국 화학 연구소에서 분양받은 5주령 Fisher 344계 수컷 랫드 50마리를 사용하였다. 1주 동안 예비 사육으로 실험실 환경에 적응시킨후 6주령에 실험에 사용하였다. 사육 및 실험기간 동안의 사육실 환경은 23±2℃, 상대습도 60±10%를 유지하였고, 자연채광하에서 랫드용 케이지(polycabonate, 26×24×18 cm, 명진기계 제작)에 2마리씩 넣어서 사육하였다. 사료(실험동물용 사료, 제일사료)와 음수는 충분히 공급하였다.

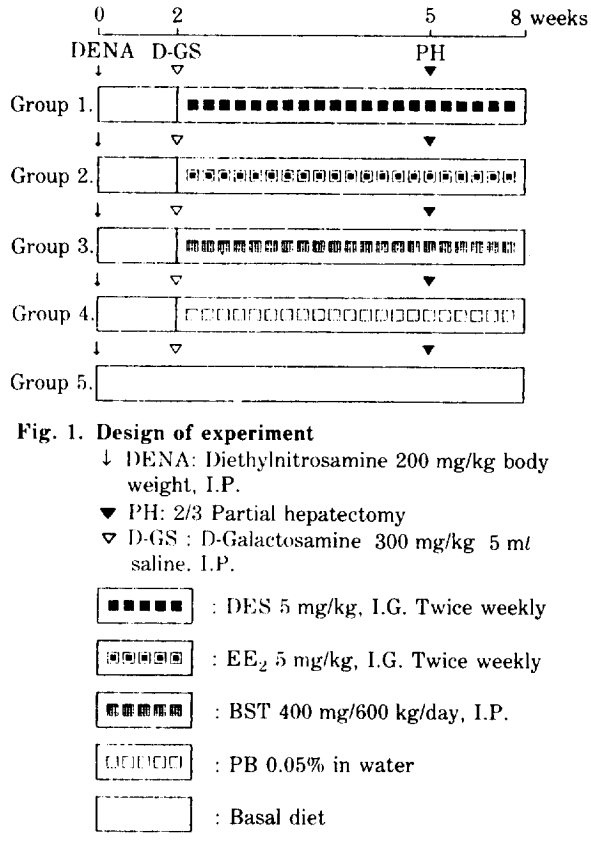

Fig. 1. Design of experiment
↓ DENA: Diethylnitrosamine 200 mg/kg body weight, I.P.
▼ PH: 2/3 Partial hepatectomy
▽ D-GS : D-Galactosamine 300 mg/kg 5 ml saline, I.P.

시험물질－소 성장촉진 홀몬인 BST(Bovine Somatotrophin), estrogen 홀몬인 DES(Diethylstilbesterol), EE_2(17α-ethinylestradiol)와 발암촉진효과가 잘 알려진 PB(Phenobabital)을 시험물질로 사용하였다.

실험설계 및 시험물질 투여－실험동물은 각 군 10마리씩 5군으로 나누어 배치하였으며(Fig. 1), 각 실험군 모두에 시험개시일에 간암 유발물질(initiator)인 Diethylnitrosamine(DENA, Sigma chemical Co., USA)을 생리식염수에 용해시켜 체중 kg당 200 mg씩 복강내로 투여하였다.

제 1군에는 시험개시 제 2주부터 제 8주까지 6주동안 시험물질인 DES를 체중 kg당 5 mg을 1주에 2번 위내로 투여하였으며, 제 2군에는 시험개시 제 2주부터 시험종료일까지 6주동안 EE_2를 체중 kg당 5 mg을 위내로 투여하였다. 제 3군에는 시험개시 제

2주부터 시험종료일까지 6주동안 BST를 체중 600 kg당 400 mg을 복강내로 투여하였다.

제 4군에는 시험개시 제 2주부터 시험종료일까지 6주동안 PB를 음수에 0.05%되게하여 투여하였으며, 대조군인 제 5군에는 시험개시 2주부터 시험종료일까지 6주동안 basal diet만을 먹였다.

시험개시(DENA투여) 2주에 D-Galactosamine을 체중 kg당 300 mg을 복강내로 투여하였고, 5주에 간변화의 증폭을 위하여 모든 랫드에서 간의 2/3(67%, 좌우 중심엽 및 좌측외엽)를 절제하였다. 시험개시 8주후에 모든 랫드를 부검하였다.

체중 및 사료섭취량 측정－체중변화의 추이를 알기 위해 시험개시일과 이후 매주 1회 랫드의 체중을 측정하였다. 랫드의 체중 kg당 1일 사료섭취량을 계산하기 위해 체중측정과 병행해서 매주 1회 사료섭취량을 측정하였다. 사료통에 충분한 양의 사료를 채워 무게를 측정한 후 급여하고, 다음날 같은 시각에 남은양을 측정하여 사료섭취량을 계산하였다.

장기의 처리－시험종료하루전에 모든군의 동물을 절식시켰으며, 체중을 측정한후 부검하여 간을 적출하고 간의무게를 측정하여 체중에 대한 간의 무게비를 계산하였다.

광학 현미경 관찰－간 부분절제후 남은 우측외엽(right lateral lobe)및 미상엽(caudate lobe)에서 2~3 mm 두께로 간 조직을 채취하여 일부는 10% phosphate buffered formalin에 고정한 후 일반적인 paraffin절편을 만들어 Hematoxylin 및 eosin 염색을 하여 병변을 관찰하였다. 간 조직의 일부는 냉 아세톤(cold acetone)에 고정하여 6 μm두께의 paraffin 절편을 만들어, 전암병변(preneoplastic lesions)의 marker enzyme인 glutathione S-transferase placental form(GST-P)양성 foci와 nodules에 대한 면역조직 화학적 염색을 하였다. Color Video Image Analyzer를 이용하여 직경 2 mm이상의 GST-P 양성 foci와 nodules의 수와 면적을 계산하였다.

면역 조직 화학적 염색－간 조직내의 GST-P양성 foci와 nodules의 분포를 확인하기 위해서 Avidin Biotin Peroxidase Complex (ABC)법을 이용하여 염색을 하였다. Rabbit-anti-GST-P antibody(1차항체)는 나고야 시립대학교 의과대학으로부터 공급받았으며, 0.01 M Phophate Buffered Saline으로 10배 희석한 후 Bovine Serum Albumin이 1%가 되도록 첨가하여 냉장보관하면서 사용하였다.

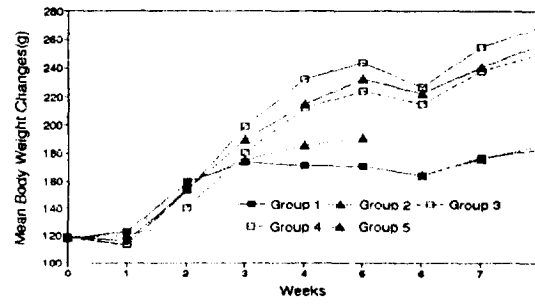

Fig. 2. Mean body weight change of rats treated with DENA

자료의 통계처리－시험결과치는 2-Tailed t-test를 이용하여 대조값과 비교, 분석하였다. 전 항목에 대하여 공히 5%($p<0.05$), 1%($p<0.01$) 및 0.1%($p<0.001$)의 수준에서 유의성을 점검하였다.

결 과

체중변화－모든 군에서 간암 유발물질인 DENA를 투여한후 체중의 증가가 거의 보이지 않다가 1주후부터 현저한 체중의 증가를 보이다가 D-GT을 투여한 2주후부터 DES와 EE_2를 투여한 군인 제 1군과 2군의 체중증가가 다른 3군에 비해 현저히 둔화되었고, BST와 PB투여군은 대조군과 비슷하게 체중이 현저히 증가함을 보였다. 그러나 모든군에서 간 부분절제를 실시한 후인 5주부터 체중증가가 감소하다 1 주후에 다시 증가하였다(Fig. 2).

간의 무게비－체중에 대한 간의 무게비에 있어서 DES를 투여한 제 1군(5 mg/kg)과 EE_2를 투여한 제 2군(5 mg/kg)에서 각각 음성 대조군인 제 5군에 비해 유의성($p<0.001$)있게 높았다. 또한 PB투여군인 제 5군에 비해 간의 무게비가 유의성($p<0.001$)있게 높았으나, BST를투여한 제 3군은 대조군과 유의성이 없었다. 이와같은 결과를 볼때, DES, EE_2, PB에의한 효소유도(enzyme induction)가 활발히 일어났을 것으로 사료되어진다.

육안 및 광학 현미경 소견－간암 유발물질인 DENA (200 mg/kg)를 투여한후 시험물질인 DES, EE_2, BST를 투여한 군 및 대조군의 전 개체의 간 표면에는 육안적으로 아무런 증식소견을 관찰할 수 없

Table 1. Liver Weight-to-Body Weight Ratios

Group & treatment (mg/kg)	No. of rats initial	No. of rats final	Final B.W	Liver/B.W ratios
Group 1 DENA → DES	10	8	190.0 ± 10.88***	4.59 ± 0.51***
Group2 DENA → EE_2	10	8	184.1 ± 14.86***	4.51 ± 0.36***
Group 3 DENA → BST	10	9	264.4 ± 17.28	3.71 ± 0.26
Group 4 DENA → PB	10	8	281.8 ± 9.59*	4.84 ± 0.25***
Group 5 DENA → basal diet	10	10	266.3 ± 10.99	3.54 ± 0.18

Each value is the Mean ± S.D.
***: Significantly different ($p<0.001$) from group 5.
**: Significantly different ($p<0.01$) from group 5.
*: Significantly different ($p<0.05$) from group 5.

Table 2. Number and Total Area of Glutathione S-transferase Placental Form (GST-P) positive Foci and Nodules in the Liver of Rats

Group & treatment	No. of rats initial	No. of rats final	No. of GST-P foci nodules/cm^2	Total area of GST-P foci and nodules (mm^2/cm^2)
Group 1 DENA → DES	10	8	5.48 ± 2.35*	0.93 ± 0.51**
Group2 DENA - EE_2	10	8	3.11 ± 1.26	0.50 ± 0.20**
Group 3 DENA → BST	10	9	2.29 ± 1.03	0.28 ± 0.14
Group 4 DENA → PB	10	8	3.36 ± 1.59	0.86 ± 0.44**
Group 5 DENA → basal diet	10	10	2.75 ± 1.86	0.21 ± 0.12

Each value is the Mean ± S.D.
*: Significantly different ($p<0.05$) from group 5.
**: Significantly different ($p<0.01$) from group 5.

었으나, PB를 투여한 군의 한개체에서 증식성 결절이 간표면으로 돌출되어 있는 것이 관찰되고, 모든 개체의 간의 변연부가 둔탁하였고 종창된 감이 있었다.

증식결절 및 증식소의 수 및 면적－각 실험군의 간조직 1 cm^2당 증식결절 및 증식소의 수와 면적(mm^2)은 Table 2와같다.

DENA 투여(200 mg/kg)후 BST를 복강내로 투여한 제3군과 음성 대조군인 Basal Diet만을 투여한 제5군과의 병변의 면적과 수에 있어서 유의성이 인정되지 않았으나, DES, EE_2, PB를 투여한 제1, 2, 4군이 대조군에 비하여 유의성($p<0.01$)있게 높게 나타났다(Table 2).

이상의 결과를 볼때, BST가 DENA투여에 의한 랫드 간암 발생의 initiation 작용에 별다른 영향을 미치지 못하였으며, 또한 BST 자체의 promotion 작용도 없는 것으로 사료되나 DES, EE_2, PB은 간암발생에 있어서 발암촉진 효과가 있는것으로 사료된다.

고 찰

홀몬은 생체의 내분비선에서 합성된후 혈액으로 분비되어 여러표적 장기로 전달되어 다양한 대사과정에 영향을 미치기 때문에 의학분야 뿐만아니라 수의축산분야에서도 그 이용에 관심을 가지게 되었고, 오늘날 과학의 발달로 홀몬을 합성할 수 있게 되어 합성홀몬에 대한 이용이 증가하고 있다. 여러 합성홀몬중 특히 에스트로젠홀몬(estrogen hormone)과 성장홀몬(somatotrophine)의 활용성이 수의학 뿐만아니라 의학, 축산산분야에서 그 실용성이 널리 증명이 되었다.

에스트로젠 홀몬은 1940년대 닭에서 지방생산을 증가시킨다는 것이 발견되어, 이러한 홀몬중 하나인 펠렛의 Diethylstilbesterol(DES)을 어린닭에게 이식하였을때 고기의 질을 개선시키는 효과를 보였고, 이와는 약간 다르게 비육소에 있어서는 비육을 촉진하고 사료효율을 높이는 효과가 인정되었다(Jukes 등, 1974). 의학분야에 있어서도 1978년 까지는 DES는 기능적인 월경장애, 폐경과 관련된 에스트로젠 결핍시 치료를 위해, 폐경후의 여자들에게 있어서 유방암의 치료를 위해 사용되었고, 요즈음 같은 종류의 에스트로젠 홀몬인 17α-ethinylestradiol(EE_2)은 경구 피임제의 주요한 estrogen성분으로 이용되는 합성홀몬이다(Champen등,1987).

그러나 1971년 Herbst등은 여자아이를 임신하고 있는 산모가 DES 처치를 받았을때, 그 여자아이가 태어난후 젊은나이에 질의 선암종(vaginal adenocarcinoma)이 발생된 8 case를 보고하여, DES가 여러분야에서 널리 이용되고 있었던 그 당시에 관심의 촛점이 되었으며, 그 이후 이러한 발암성의 보고가 계속되어 비육을 위해 DES의 사용을 금지해야한다는 요구가 증가하였고, 이것이 반추수에서 뇨나 분변으로 대부분 배설이 되지만 미량이나마 간장과 같은 장기에서 장기간에 걸쳐 배설되지 않고 잔류한다는 보고가 있어(Ashbacher 등, 1974) 이미 1973년 미국 FDA에서는 비육을 위해 DES의 사용을 전면 금지시켰다(Jukes 등, 1974). 이러한 상황에도 불구하고, 반추수에서 계속적으로 사료첨가제와 피임약으로 계속 사용되어왔다.

1975년 Malachlan 등은 숫컷 마우스를 이용한 실험에서 태어나기전 DES에 노출되었을때 생식기관에 여러병변이 발생하였다고 보고하였고(Mclachlan 등, 1975), 거세한 숫컷의 랫드에서 DES가 다른 발암물질과의 상승작용(synergism)으로 간장, 유방, 뇌하수체에 암의 발생이 보고되었다(Chiyo 등, 1980). 또한, Yager 와 Yager는 거세하지 않은 랫드에서 에스트로젠 홀몬이 발암촉진 효과가있음을 처음 보고한 이래로 에스트로젠 홀몬이 랫드와 햄스타에서 발암촉진효과가 있음이 밝혀졌다.(Yasuo 등, 1989 ; Jonathan 등, 1984 ; Wanless 등, 1982).

한편, 1930년대초 조잡한 뇌하수체 추출물을 성장기의 동물에 투여시 성장률이 증가되고(Evans와 Simpson, 1931), 비유기에 있는 동물에 있어서는 우유생산을 증가시킨다(Asdell, 1932)는 보고를 하였고, 그 이후 잇달은 연구에서 뇌하수체 추출물중 두 물질 즉, 펩티드 홀몬인 prolactin과 somatotrophine이 비유에 중요함을 밝혀 냈으며(Ashimov와 Krouze, 1937 ; Cotes 등, 1949), 1964년 Cowie 등에 의해 수행된 반추수를 이용한 실험에서 prolactin이 없는 기간동안 somatotrophine이 비유를 위해 필수적임이 확립되었다. 이러한 연구결과와 최근 유전공학적인 방법인 DNA 제조합법의 개발로 인하여 소에서 비유 및 비육촉진을 위하여 소성장홀몬(bovine somatotrophine[BST]) 이 국내는 물론 국외에서 대량생산 할 수 있게 되었고, 1986년 미국 FDA가 의회에서 BST가 안전하기 때문에 BST로 처치한 육류의 판매를 허가한다는 공식입장을 표명한 이래 미국에서는 소에서 비유 및 비육촉진을 위해 현재 다량 사용하고 있다(Robert Reotutar, 1990). 미국의 이러한 입장과는 달리 1988년 EC국가들은 모든 가축사육에 홀몬제 사용을 금지 시켰다. 또한 국내에서도 소에서 합성성장홀몬의 사용을 규제하고 수입육류에도 그 사용을 규제해야 된다는 소리가 높아지고 있어, 인체 및 동물체에 합성홀몬제의 사용과 그 위해성에 대해 국내·외의 미생물학과 의학계에서 논쟁이 가열되고 있다. 이러한 상황에서 이러한 물질의 발암성을 빠른 시일내에 정확하게 검색할 수 있는 방법이 중요하다. 최근까지 이러한 합성홀몬의 발암성을 검색하는데는 20주 이상의 긴 기간동안 투여시에 동물에서 발암성을 확인할 수 있었다(Yasuo Himeno 등, 1989). 그러나 1980년 Ito 등은 Solt와 Farber법을 수정보완하여 나고야법을 만들었는데 이것을 DEN-PH 중기 발암성 검

색법이라고 한다. 이 방법에 의해 홀몬은 물론 여러 합성물질의 발암성을 단기(8주)에 검색할 수 있고, 장기생체 시험성적에의 높은 적중률을 나타내어 (Ogiso 등, 1985), 지금 현재 발암성 검색을 위해서 널리 이용되고 있고 믿을 만한 방법으로 받아 들여지고 있어 합성홀몬의 발암성을 좀더 짧은 기간에 검색 할 수 있다는 장점을 가지고 있으나 이 방법은 간장을 표적장기로 하지않는 물질의 검색을 위해서는 만족할만 하지않다. 그래서 이 방법을 수정·보완해서 간장을 표적장기로 하지 않는 발암물질(non-liver carcinogen)을 검색하는 방법이 개발되었다. 이러한 목적을 위해서 개발된 DEN-Galatosamine-PH 발암성 검색법에서 D-Galactosamine의 처치는 간세포에 손상을 주어 세포증식을 유발하여 발암을 증폭시키는 작용을 하고, 이 검색법은 간장을 표적장기로 하는 발암물질이나 간장을 표적장기로 하지 않는 물질을 검색하는데 높은 적중율을 나타내어 어떤물질의 발암성을 검색하는데 가장 유용한 방법으로 인정되고 있다(Ito 등, 1988).

GST-P 면역염색에 의한 전암병변으로서 증식소(foci)의 수와 면적을 검색해 본 결과, 시험물질인 DES, EE_2, PB를 투여한 제 1, 2, 4군과 대조군인 제 5군과는 유의차가 나타났으므로($p<0.01$) 이들 물질이 발암촉진(promotion)효과가 있는 것으로 생각되기 때문에 수입축산물중에 estrogen종류의 홀몬이 있는지를 철저히 검색할 필요성이 있다.

한편, estrogen홀몬이외에 소등 반추류에서 비육 및 비유촉진 효과를 보이는 BST를 투여한 제 3군과 대조군과의 전암병변의 면적과 수의 비교에서 유의성이 없었다. 그러므로 BST가 소고기에서 잔류해 사람에게서 독성이 있는지가 국·내외에서 논의의 대상이 되고 있지만, 본 실험의 결과를 볼때 발암성이 랫드에서 없는 것으로 사료된다.

결 론

중기 발암성 스크리닝법 모델을 이용하여 수입축산물중에 잔류할 수 있는 estrogen 홀몬인 DES (Diethystilbesterol)와 BST(Bovine somatotrophin) 그리고 경구 피임제로 사용되는 EE^2(α-ethynylestrodiol)의 발암성을 알아보기 위해, 화학적 발암물질에 의해 발생된, 랫드의 간에서 전암병변의 지표효소인 glutathion S-transferase placental form (GST-P)을 이용하여 증명하고, Color Video Image Analyzer를 이용하여 전암병변의 수와 면적을 계산한 후 이들 홀몬 투여군과 대조군을 비교분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. esrogen 홀몬인 DES와 EE_2를 투여한 제 1, 2 군의 전암병변의 수와 면적에서 대조군에 비하여 유의성있게 높았다($p<0.01$).

2. BST의 전암병변의 수와 면적은 대조군인 제 5 군과 비교해 보았을 때 유의차가 없었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 시험물질인 BST는 화학적 발암물질로 유도한 랫드의 간 발암성 모델에서 암발생의 Promotion이나 Initiation에 유의할 만한 촉진효과나 억제효과가 없는 것으로 사료된다. 그러나 DES와 EE_2는 간암 발생과정에서 촉진 효과가 있는 것으로 사료되어 수입축산물중에 이들 홀몬이 들어 있는지의 여부를 철저히 규명할 필요성이 있다.

국문요약

이 연구는 수입 축산식품중에 잔류해서 사람에게 해를 줄수 있는 여러 합성홀몬의 발암성을 알아보기 위하여 수행한 연구이다.

6주령의 F344 랫드를 5군으로 나누어 발암유발물질인 diethylnitrosamine(DENA)를 체중 kg 당 200 mg을 복강내 투여하고, 시험계시 제 2주에서 시험종료시까지 제 1, 2, 3군에 각각 diethylstilbesterol(DES), ethynylestradiol(EE_2), bovine somatotrophin(BST)을 투여하고, 제 4군에는 발암촉진이 잘 알려진 phenobabital을 투여하였으며, 제 5군은 대조군으로 기초사료만을 급여 하였다. 동시에 모든군의 랫드는 D-galactosamine을 체중 kg 당 300 mg을 복강내로 1회 투여하였으며, 간변화의 증폭을 위하여 2/3 간부분 절제를 시험개시 제 5주에 실시 하였다. 시험종료시 부검후 랫드의 간장은 GST-P에 대한 면역조직화학적 염색을 실시하여 발암성을 검색하였다.

두개의 합성 에스트로젠 홀몬(EE_2, DES)은 대조군과 비교하였을때 발암성이 있는 것으로 생각되어지고, BST는 발암성이 없는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Aschbacher, P.W.: Metabolism of C-Diethystilbesterol in sheep J. of Animal Science, **35,** 1031 (1976).
2. Aschbacher, P.W. and Thacker, E.J.: Metabolic fate of oral diethylstilbesterol in steers, *J. of Animal Science,* **39,** 1185 (1974).
3. Bauman, D.E. and McCitaeon: The effects of growth hormone and prolactin on metabolism. In contol of digestion and metabolism in ruminants, NJ, L.P. Milligan, W.L. Grovum and A.Dobson, 1986.
4. Chiyo Sumi, Kenjiro Yokoro, Takashi Kajitani and Akihiro Ito: Synergism of diethylstilbesterol and other carcinogens in concurrent development of hepatic, mammary, and pituitary tumors in castrated male rats, *JNCI,* **65,** 169 (1980).
5. Campen D.B., Sloop T.C., Maronpot, R.R. and Lucier G.W.: Continued development of hepatic -glutamyltranspeptidase-positive foci upon withdrawal of 17 -ethynylestradiol in diethynitrosamine-mediated rats, **47,** 2328 (1988).
6. Denamur, R.: Review of progress of diary science. Section A physiology. Hormonal control of lactogenesis, *J. Diary Res.,* **38,** 237 (1971).
7. Edward D.H., Donald, E.H., George W.L., Thomas, J.S. and James, W.K, Jr.: The metabolism of diethystilbesterol in the rhesus monkey and chimpanzee, *J. of Environmental pathology & Toxicology* **2,** 521-537 (1978).
8. Hart, I.C., Bines, J.A. and Morant S.V.: Endocrine control of energy metabolism in the cow: Correlation of hormones and metabolites in high and low yieling cows for the stages of lactation, *J. Diary Sci.,* **62,** 270 (1979).
9. Herry, C.M.: Drug an chemical residues in domestic animals, *Federation Proceedings,* **34,** 197-201 (1975).
10. Jonathan J. Li and Sara Anthonio Li: High incidence of hepatocellular carcinoma after synthetic estrogen administration in syrian golden hamster fed -naphthoflavone: A new tumor model, *JNCI,* **73,** 543-547 (1984).
11. Jukes, T.H.: Estrogens in beefsteaks, *JAMA,* **30,** 1920-1921 (1974).
12. MacLanchlan, J.A. and Newbold, R.R.: Reproductive tract lesions in male mice exposed prenatally to diethystilbesterol, *Science,* **190,** 991-992 (1975).
13. Yasuo Himeno, Yoshihiro Fukuda, Masakazu Hatanaka and Hiroo Imura: Expression of oncogens during rats chemical hepatocarcinogenesis promoted by estrogen, *Jpn. J. Cancer Res.,* **80,** 737-742 (1989).
14. Wanless, I.R. and Medline A.: Role of estrogens as promoters of hepatic neoplasia, Laboratory Investigation, **46,** 313-320 (1982).