

O-3

Pentachlorophenol(PCP)의 유전독성 기전으로서 free radical과 DNA adduct의 역할에 관한 연구

정요찬, 조명행

서울대학교 수의과대학 독성학교실

Pentachlorophenol(PCP)은 전세계적으로 목재 보존제로서 제지 및 펄프공장 등에서 많이 사용되며 주위환경으로 오염되어 비교적 안정한 구조를 지님으로 인해 오랜기간 동안 환경에 잔류하여 지속적인 문제를 야기시킬 수 있다. 이러한 환경오염물질인 PCP에 의한 유전독성기전을 확인하기 위한 실험을 실시하였다. 이를 위하여 rat, rat liver microsome, 그리고 간세포를 분리하여 PCP가 DNA 손상에 미치는 영향을 조사하였다. 먼저 *In vivo* 실험으로서 몇 단계의 농도를 설정하여 ^{14}C -PCP를 rat에 투여하고 세포내 거대분자들이 DNA와 단백질과 형성된 covalent adduct의 형성을 관찰하고 친전자적 독성물질의 해독에 중요한 역할을 수행하는 glutathione(GSH)의 수준을 측정하였다. PCP의 혈장 알부민 또는 간장 단백질과 형성된 adduct는 용량 및 시간의존적으로 나타났다. Cytochrome P-450에 의한 효과를 확인하기 위하여 phenobarbital과 3-methylchloranthren으로 전처치하여 cytochrome P-450을 유도시키거나 SKF 525-A로 처리하여 cytochrome P-450을 억제시켜 실험을 실시한 결과 protein adduct는 cytochrome P-450의 양과 의존적으로 증가하고 albumin adduct는 의존성 있는 감소를 나타내는 것을 확인하였다. 모든 실험동물에서 DNA adduct나 hemoglobin adduct는 확인되지 않았다. 간균질액에서 GSH의 수준을 살펴본 결과 12시간에서 최저 수준을 보이고 48시간 이후 정상으로 회복되는 양상을 보여주었다. 또한 GSH 수준에 미치는 cytochrome P-450의 영향을 살펴본 결과 cytochrome P-450의 수준과 반대로 감소하는 양상을 나타내었다. GSH에 의한 PCP의 반응성대사산물의 해독정도를 평가하고 GSH conjugate의 최종산물인 mercapturic acid에 대한 standard를 준비하기 위하여 GSH와 tetrachloro-1,4-benzoquinone(1,4-TCBQ)간의 conjugate를 HPLC와 고해상도를 지닌 mass spectrometer를 이용하여 분석한 결과 대부분의 1,4-TCBQ가 GSH와 특이적으로 신속하게 결합함을 알 수 있었다. 다음은 PCP에 의한 특성중 free radical의 역할을 확인하기 위하여 간장 microsome에서 아세틸화된 cytochrome c를 이용하여 superoxide anion radical의 형성여부를 확인하는 실험을 실시하였다. 실험결과 정상 microsome과 PB로 유도시킨 microsome에서 높은 수준의 superoxide anion radical이 형성되는 것을 확인할 수 있었다. PCP에 의한 세포독성과 GSH 고갈, 지질과산화, DNA adduct 형성, DNA fragment 등의 free radical에 의한 세포 손상을 확인하기 위하여 분리 간세포를 이용하여 세포생존율을 측정한 결과 PCP에 대한 용량과 의존적으로 세포생존율이 감소하는 것을 확인하였다. GSH 고갈, 지질과산화로 인한 malondialdehyde의 형성 등의 free radical 손상이 PB로 유도시킨 간세포에서 PCP에 대해 용량의존적으로 증가하는 양상을 확인할 수 있었다. 그러나 DNA

fragment에 있어서는 용량의존성이나 전치치 약물에 대한 의존성을 확인하기 어려웠다.

이상의 결과를 종합하면 체내로 흡수된 PCP는 주로 간장조직에서 cytochrome P-450 isoenzyme에 의해 대사되어 반응성이 매우 높은 대사산물인 tetrachlorohydroxyquinone (TCEQ), TCBQ간의 “redox cycling” 과정을 통하여 많은 양의 superoxide anion radical이 형성되며 체내에 GSH, superoxide dismutase 등의 해독기전이 충분한 경우 효과적으로 해독될 수 있으나 과량의 PCP가 흡수되거나 해독기전이 불충분한 비정상적 상황에서는 지질 과산화, DNA adduct 형성, apoptosis의 유도 등의 다양함 free radical damage 등이 유도될 수 있는 것으로 추측된다. 결론적으로 PCP에 의한 유전손상 기전에 있어 free radical에 의한 손상기전이 DNA adducts에 의한 손상기전보다 주요하게 작용함을 알 수 있었다. 또한 본 실험을 통하여 PCP 노출에 대한 단기간의 biomarker로서 혈중 albumin adduct와 반응성 대사산물과 GSH간의 conjugate의 최종대사산물인 mercapturic acid의 유용성을 확인하였다.