P - 25

제 목	국 문	**Ethanol이 Trichloroethylene에 의한 Cytochrome P-450IIE1의 유도에 미치는 영향**
	영 문	Effect of Ethanol on the Induction of Cytochrome P-450IIE1 by Trichloroethylene
저 자 및 소 속	국 문	김기웅, 정효석*, 손남석, 김양호, 문영한, 박상신 한국산업안전공단 산업보건연구원, 순천향대학교 자연대학*
	영 문	Ki Woong Kim, Hyo Seok Jeong*, Nam-Seok Sohn, Yangho Kim, Young-Hahn Moon and Sang Shin Park *Industrial Health Research Institute, KISCO* *College of Natural Science, Soonchunhyang University**

분 야	산업독성	발 표 자	김 기 웅
발표 형식	포 스 터	발표 시간	
진행 상황	연구완료 (0), 연구중 ( ) → 완료 예정 시기 : 년 월		

1. 연구 목적

생물체에는 이물질과 체내 생성물질에 대하여 대사 및 항상성을 조절하는데 관여하는 많은 효소들이 존재하며, 이들 효소들은 기질에 대한 특이성과 중복성을 가지고 있다. Cytochrome P-450 (P-450)과 NADH-의존성 탈수소효소인 alcohol dehydrogenase (ADH)와 aldehyde dehydrogenase (ALDH)는 ethanol과 trichloroethylene (TRI)의 대사에 중요한 역할을 하는 효소로서 이들 유기용제에 대한 중복성을 가지고 있다. 그러므로 본 연구는 유기용제 취급 근로자들이 기호음료인 ethanol을 섭취한 후 ethanol이 완전이 대사되기 전에 TRI에 폭로될 경우, ethanol에 의해서 유도된다고 알려진 cytochrome P-450IIE1 (P-450IIE1)이 TRI의 폭로로 인하여 P-450IIE1의 유도에 어떠한 영향을 미치는지를 monoclonal antibody를 이용하여 확인하고 TRI의 대사에 관여하는 cytochrome P-450 dependent monooxygenase의 활성도 변화를 동물을 이용하여 관찰하였다.

2. 연구 방법

Sprague Dawley계 수컷 흰쥐(170±10g)를 사용하여, 실험군은 대조군, TRI 단독처리군 3개군 (150, 300, 600 mg/kg body weight)과 ethanol을 전처리(4 g/kg body weight) 30분 후 TRI를 처리한 군(150, 300, 600 mg/kg) 3개군으로 하여 총 7개 실험군으로 하였다. TRI는 corn oil에 용해시켜 2일간 연속하여 복강주사 하였다. 실험에 이용된 간장의 microsomes 분획은 차등원심분리방법(Park과 Kim, 1984)으로 분리하였고, 단백질과 cytochrome P-450의 함량은 Lowry 등(1951), Omura와 Sato 방법(1964)으로 정량하였으며, NADPH-P-450- 과 NADH-b_5 reductase는 각각 Master 등(1967)과 Hultquist 방법(1978)으로 측정하였다. Aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) 활성도는 Nebert와 Gelboin(1968)의 방법으로, pentoxyresolufin-O-deethylase (PROD)와 p-nitrophenol hydroxylase (p-NPH)의 활성도는 Lubet 등(1985)의 방법과 Koop (1986)의 방법으로 각각 측정하였으며, 단일항체를 이용한 Western immunoblot 분석은 Ko 등(1987)의 방법으로 하였다.

3. 연구결과

간장의 microsomal cytochrome P-450과 b_5의 함량은 대조군 보다 TRI 투여군에서 감소 되었으며, 투여농도의 증가에 따라 비례적인 감소를 나타냈다. 그러나 ethanol을 전처리하고 TRI를 투여한군과 TRI를 단독처리한 군에 있어서는 두 군간에 큰 차이를 볼 수 없었다. Reductase의 경우, NADPH- cytochrome P-450 reductase는 TRI의 투여농도 증가에 따라 감소되었다. 이에 반하여 NADH b_5 reductase는 투여농도 증가에 따라서 증가되었다. 그러나 ethanol 전처리 후 TRI 투여군과 TRI 단독투여군에서는 차이를 보이지 않았다($p< 0.05$). Cytochrome P-450IA 동위효소에 선택적인 활성을 보이는 AHH 활성도를 benzo(a)pyrene을 기질로하여 측정한 결과, 대조군, TRI 단독투여군 및 ethanol 전처리군 모두에 있어서 차이를 보이지 않았다($p<0.05$). 그러나 cytochrome P-450IIB와 P-450IIE에 선택적인 PROD와 p-NPH의 활성도는 대조군 보다 투여군 모두에 있어서 증가를 보였으며, ethanol 전처리군에서는 ethanol의 투여로 인하여 이들 효소의 활성도가 감소 되었다 ($p<0.05$). 또한, monoclonal anti-mouse CYPIIE1(1-98-1) antibody를 이용하여 TRI 단독투여군과 ethanol 전처리군에 있어서 cytochrome P-450의 동위효소인 P-450IIE 대하여 Western immunoblot 분석한 결과, TRI 단독투여군에 있어서 투여농도 증가의 증가에 따라서 P-450IIE band의 색깔이 진해지는 결과를 보였으며, ethanol 전처리 군에서도 같은 현상을 보였으나 TRI 단독투여군과 비교시 band의 색깔이 엷게 나타났다.

4. 고찰

체내 흡수된 TRI의 대사를 연구하기 위하여 cytochrome P-450 의존성 효소인 PROD와 p-NPH 활성도 및 monoclonal anyibody를 이용한 Western immunoblot 분석한 결과, TRI 대사에 주로 P-450IIE가 관여하는 것으로 보였다. 또한 ethanol에 의해서 유도되는 cytochrome P-450의 동위효소는 P-450IIE1 형태였으며, TRI의 대사에 있어서 ethanol이 P-450IIE 동위효소의 유도를 억제 하였다. 따라서 금번 연구결과를 보면, ethanol이 흡수된 TRI의 대사과정에 경쟁적인 작용으로 전반적인 대사속도의 감소와 더불어 체내의 독성을 유발하는 것이 아닌가 하는것을 시사하고 있다.