

TCDD가 생쥐 수정란 발달 및 정소에 미치는 영향

윤 정, 서동삼, 고 용
고려대학교 생명환경과학대학 응용동물학과

서론

내분비계 장애물질은 생체내 호르몬 작용을 교란시키는 독성화학물질로서 비정상적인 생리현상을 유도한다. 내분비계 장애물질중의 하나인 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)은 세포내에 존재하는 aryl- hydrocarbon receptor(AhR)와 결합하여 핵내로 이동하고, AhR nuclear translocator(Arnt)와 결합하여 이러한 결합체가 전사인자로 작용함으로써 체내 내분비계를 교란한다. TCDD는 임신기나 포유기에 노출되었을 때 산자수를 감소시키고, 생산된 자손의 번식기관 형태를 변화시키거나 steroidogenesis를 변화시키는 것으로 알려져 있다 (Gray and Ostby, 1995; Theobald and Peterson 1997). 따라서 본 연구에서는 TCDD가 중요한 번식형질 중 하나인 산자수를 감소시키는 현상을 수정란의 발달과 정자의 형성 및 착상되는 시기에 나타나는 호르몬의 변화를 알아봄으로서 앞으로의 연구에 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

In vitro test

실험동물은 C57BL×CBA 사이에서 태어난 제1대 잡종으로서 4주령 이상의 생쥐를 사용하였다. 과배란을 유기시킨 암컷을 8주령 이상의 수컷과 교배시켜 one-cell 단계에서 수정란을 회수하였으며, Ham's F-10에 10% FBS가 첨가된 배양액에 다양한 농도의 TCDD(1, 10, 100, 1000 pM)를 첨가하여 수정란 체외배양시 TCDD의 첨가효과를 살펴보았다.

In vivo test

실험동물로는 6주령의 ICR종 생쥐를 사용하였으며, 2주간에 걸쳐 TCDD를 고농도 처리군(1µg/kg/day)과 저농도 처리군(1µg/kg/day)에 각각 구강투여를 실시하였고, 대조군으로는 비처리군과 Oil 처리군을 설정하였다. 마지막 TCDD의 첨가 후 1주일간의 적응기를 두고 동일한 처리구간 교배를 실시하여 암컷은 임신 6일령에 경추분리하여 도살하였으며, 수컷은 교배 후 1주일간의 적응기를 두고 경추분리를 통하여 도살하였다. 혈액내 호르몬 분석을 위하여 심장에서 혈액을 채취하여 혈청분리 하였으며, 각각 testosterone과 progesterone을 분석하였다. 정소는

고정처리 후 paraffin으로 포매하여 조직학적 실험에 이용하였고, 채취된 정소상체 미부는 무게를 측정된 후에 정자수를 분석하는데 사용하였다.

결과 및 논의

생쥐 수정란 발달에 미치는 영향

생쥐 수정란 체외발달에 TCDD가 미치는 영향을 조사한 결과 극소량(1, 10 pM)을 첨가하였을 경우 통계적 유의성은 없었으나 배발달율이 점차로 감소하는 경향을 나타내었다. 배발달율을 감소시키는 TCDD의 작용은 고농도(100, 1000 pM)로 첨가하였을 경우에 더 큰 영향을 보였으며, 초기 배발달율의 감소효과(P<0.05)보다 포배기 이상 단계에서 배발달율의 감소효과(P<0.01)가 큰 것으로 나타났다. 이러한 결과는 쥐 수정란에서 TCDD의 작용매개체인 AhR이 포배기 이상의 단계에서 발현되었다는 기존의 보고(Peters and Wiley, 1995)에 따라 AhR의 발현이 나타나는 시기에 배발달율을 억제하는 경향이 크게 나타난 것으로 사료된다.

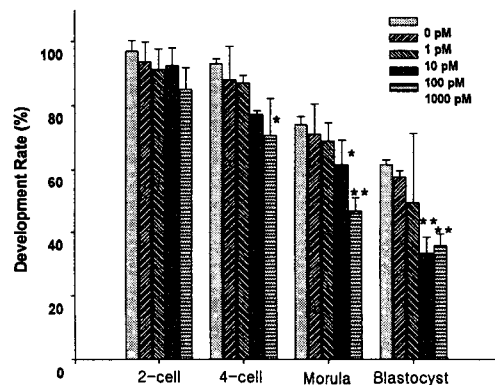


Fig 1. Effects of TCDD on the development of mouse embryos.

착상과정에 미치는 영향

TCDD를 투여한 암컷에서 착상시기에 발현되는 progesterone의 농도를 조사한 결과 저농도 처리군에서는 대조군에 비하여 감소되는 것으로

조사되었으나, 고농도 처리군에서는 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 TCDD가 임신초기에 탈락막 현상이 나타나는 시기에 어떠한 영향을 나타내는가를 알아보기 위한 초기 자료로 사용 가능할 것으로 보이며, 여러 성장인자들과의 관계분석을 통하여 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

정자형성과정에 미치는 영향

TCDD를 투여한 수컷의 정소상체 미부에서 정자수를 측정된 결과 정소무게당 정자수나 정소상체 무게당 정자수 모두 유의적으로 감소되는 것($P < 0.01$)을 확인하였다. 또한 혈액내 testosterone의 농도를 조사한 결과 저농도 처리군과 고농도 처리군 모두에서 감소된 결과를 나타냈으며, 조직형태학적 분석에서도 비처리군과 비교시 TCDD 처리군에서 세정관 내강내 정자세포가 국부적으로 관찰되지 않았다. 이러한 결과들을 종합적으로 고찰시 TCDD가 testosterone 농도를 감소시킴으로서 정자형성을 억제한 것으로 사료된다.

이상의 결과들을 종합하면 TCDD에 의한 산자수의 감소는 번식과정중 한 단계에 영향을 미침으로서 나타난 결과가 아니라 수정란의 발달이나 착상과정, 정자형성 과정 중에 일어나는 일련의 변화에 복합적으로 영향을 미치기 때문인 것으로 사료된다. 현재 이러한 기작을 조직 특이적인 성장인자 발현과 연관하여 착상과 정자형성 과정을 조절하는 TGF- β 에 대한 분석을 실시 중에 있으며 이러한 결과와 접목시 TCDD에 의한 산자수 감소 기작을 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Gray BE and Ostby JS (1995) Toxicol Appl Pharmacol 133: 285-94.
Peters JM and Wiley LM (1995) Toxicol Appl Pharmacol 134: 214-21.
Theobald HM and Peterson RE (1997) Toxicol Appl Pharmacol 145: 124-35.