

에스트로겐성 내분비계장애물질이 어류의 생식내분비 호르몬 대사 과정에 미치는 영향

백 혜 자
부경대학교 자원생물학과

서 론

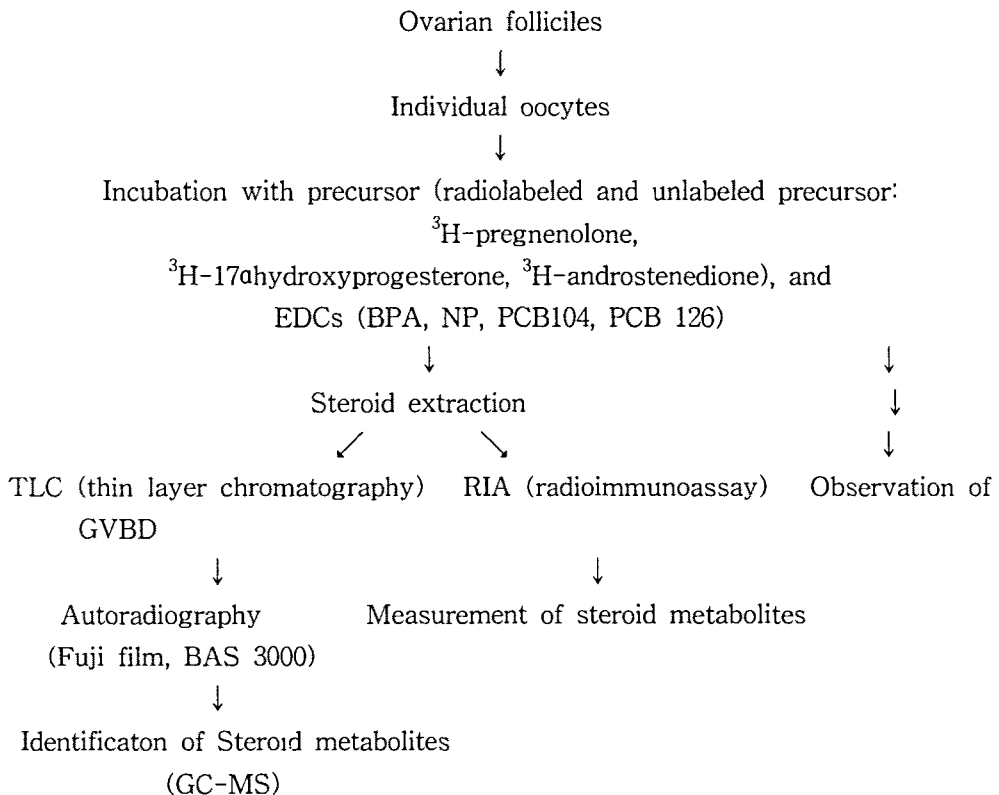
환경호르몬이라 불리는 내분비계장애 또는 교란 물질은 수서생물의 난발생, 유생이나 어린 치어의 성장과 발달에 치명적인 영향을 미칠 뿐 만 아니라 모패나 성어의 생식기능 작용을 방해하여 생물자원 감소현상을 초래하고 있다 (Fent and Hunn, 1992; Van Der Kraak et al., 1995). 특히 어류의 번식기능 장애에 대한 평가는 어류가 고등척추동물과 인간의 생식내분비계와 유사하므로 어류에 나타나는 내분비계 장애는 인간에게도 나타날 수 있다는 관점에서 인간에 대한 영향 가능성을 판단할 수 있는 지표가 된다. 내분비장애물질이 인체에 끼치는 영향은 직접적인 실험이 곤란한 이유로 대개는 *in vitro* 실험이나 동물실험을 통해 그 결과를 예측한다. 생태계내 내분비계교란물질중의 많은 양은 에스트로겐과 유사한 작용을 일으키는 에스트로겐성 물질로 알려져 있으므로(Sumpter and Jobling 1995) 본 연구에서는 이러한 물질과 유사한 역할을 하는 것으로 알려진 페놀류 즉, bisphenol A (BPA)와 nonylphenol (NP) 그리고 폴리염화비페닐류 (PCBs: polychlorinated biphenyls) 즉, PCB 104와 PCB 126을 선정하였다. 이러한 물질들은 우리의 일상생활에서 많이 사용되고 있는 플라스틱 음식용기 및 포장재료, 캔용기/병뚜껑, 파이프의 코팅재료, 또한 가정용 합성세제 및 전기제품의 절연체 등의 용도로 널리 사용되고 있다. 실험어류로는 현재 우리나라의 연안과 하천하구 생태계내의 환경오염 지표 종으로 알려져 있는 연안정착성 어류 즉, 망둑어류를 선정하여 내분비계 장애물질의 1단계 검색법으로 *in vitro* 시험법을 이용한 어류 난소에서 성 스테로이드 호르몬 생성시험과 난소조직 배양계를 이용한 성숙 유도 시험을 실시하여 내분비계장애물질의 번식기능에 대한 잠재적 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험에 사용한 망둑어류는 각각 그들의 산란기에 부산연안과 제주연안에서 채집하여 실험실로 옮겨졌다.

실험어는 난황형성기부터 난황형성 후 난핵이 이동을 시작하는 단계라고 판단되

는 개체를 선택하여 2-phenoxyethanol 0.3 ml/l로 마취시킨 뒤 전 채혈한 후 무균 상태에서 실험어의 난소를 절취하여 TBSS (trout balanced salt solution)로 세척하였다. 절취된 난소는 가는 핀셋을 이용하여 각각의 난모세포로 분리한 후 24 well plates에 well당 Leibovitz's L-15 (L-15) 배양액 1 ml에 20-30개의 난모세포를 각각 분주한 뒤 어종별 서식처 수온에 맞추어 24시간 또는 48시간 배양하였다. TBSS와 L-15 배양액의 pH와 삼투농도는 어종별로 혈장을 추출한 후 혈장속의 pH값과 삼투농도로 조절하였다. 이후의 실험과정은 다음과 같다.



결과 및 고찰

(1) 점망둑 (longchin goby, *Chasmichthys dolichognathus*)

1) Bisphenol A (BPA)가 난소의 성성숙 호르몬 생성과정에 미치는 영향
난소발달 단계별 즉, 난황형성기와(난경 0.74~0.80 mm) GVBD (germinal vesicle

breakdown)단계(난경 0.91~0.97 mm)로 추정되는 점망둑의 난소를 대상으로 전구물질 ^3H -17 α hydroxyprogesterone (^3H -17 α OHP)와 BPA를 첨가하여 24시간 배양한 뒤 생성된 성성숙 스테로이드호르몬 물질은 다음과 같다.

① 난황형성기

^3H -17 α OHP로부터 생성된 호르몬은 androstenedione (Δ 4), testosterone (T), estrone (E1) 그리고 estradiol-17 β (E2)로 확인되었다. BPA 처리구는 대조구에 비해 androgens (Δ 4와 T)으로의 합성은 증가시켰으나 estrogens (E1과 E2)으로의 합성은 저해하였다.

② 성숙기(GVBD)

^3H -17 α OHP로부터 생성된 대사물질은 17 α 20 α P, 17 α 20 β P, Δ 4, T, E1 그리고 E2로 확인되었다. BPA 처리구는 대조구에 비해 androgens으로의 대사과정은 촉진하였으나 progestogens과 estrogens으로의 합성은 저해하는 것으로 나타났다. 특히 E2로의 대사는 크게 감소시켰다 (대조구 5.2%, BPA 0.8%).

성 스테로이드 호르몬 생성과정을 보면 androgens의 증가는 estrogens의 감소를, 반대로 estrogens의 증가는 androgens의 감소를 초래한다. 이런 관점에서 볼 때 estrogenic chemical로 알려진 BPA는 점망둑의 난소성숙과정동안 estrogenic activity를 방해하는 것으로 생각된다.

(2) 문절망둑 (yellowfin goby, *Acanthogobius flavimanus*)

1) Nonylphenol (NP)과 PCB104가 난소의 성성숙 호르몬 생성과정에 미치는 영향 (전구물질: ^3H -17 α OHP)

난황형성기에 ^3H -17 α OHP로부터 생성된 호르몬은 testosterone (T), estradiol-17 β (E2) 그리고 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17 α 20 β P)로 확인되었다. NP와 PCB104 처리구는 대조구에 비해 이들 성성숙 스테로이드호르몬 생성을 저해하였으며, 특히 NP는 PCB104보다도 T와 E2의 생성을 더 강하게 억제하였다.

2) Nonylphenol (NP)과 PCB104가 난소의 성성숙 호르몬 생성과정에 미치는 영향 (전구물질: 17 α OHP)

문절망둑의 성숙한 난모세포 (난경 0.77 mm)를 대상으로 성 스테로이드 호르몬의 전구물질인 17 α -hydroxyprogesterone (17 α -OHP)를 첨가하여 48시간 배양한 후 생성된 성 스테로이드 호르몬, testosterone (T), estradiol-17 β (E2)과 17 α 20 β OHP의 농도를 측정하였다.

실험에 사용된 NP와 PCB104는 0.1, 1, 10, 100, 1000 ng/ml의 농도로 사용되었으며, *in vitro* 실험 효과를 위해 HCG 50 ng을 첨가하였다.

① NP의 영향

+HCG 하에서 T와 E2의 생성량은 실험 농도간에 유의한 차이를 보이지 않았

다. 그러나 17 α 20 β OHP의 경우, 17 α OHP 대조구와 비교해 볼 때 1과 100 ng/ml의 농도에서 유의한 증가현상을 보였다.

② PCB104의 영향

+HCG 하에서 E2의 생성은 17 α OHP 대조구와 비교해 볼 때, 0.1과 10 ng/ml 농도 실험구에서 저해현상을 보였다.

이상의 결과보면 NP는 난황형성기때 E2와 17 α 20 β OHP의 생성을 모두 저해하였으며, 성숙단계에서는 +HCG하에서 17 α 20 β OHP의 생성을 증가시켰다. 그러나 E2의 생성에는 아무런 영향을 미치지 않았다. PCB104는 난황형성기때 NP와 마찬가지로 E2와 17 α 20 β OHP의 생성을 모두 저해하였으며, 성숙단계에서는 +HCG하에서 E2의 생성을 저해하는 것으로 나타났다. 그러나 17 α 20 β OHP의 생성에는 아무런 영향을 미치지 않았다.

따라서 문절망둑에 대한 NP와 PCB104의 작용 효과는 난소발달단계에 따라 다르게 나타나는 것으로 생각된다.

(3) 검정망둑 (*chichibu goby, Tridentiger obscurus*)

1) Nonylphenol (NP)과 PCB126이 난소의 성성숙 호르몬 생성과정에 미치는 영향

난황형성기(난경 0.53 mm)와 성숙기(난경 0.75 mm)의 난소를 대상으로 NP와 PCB126을 첨가하여 24시간 배양 후 생성된 E2의 농도를 측정하였다. 실험에 사용된 NP와 PCB126은 1, 10 그리고 100 ng/ml의 농도로 사용되었다.

① NP의 영향

난황형성기에서는 NP 10과 100 ng/ml 실험구에서 E2의 생성을 촉진하였으며, 성숙단계에서는 E2 생성에 뚜렷한 효과를 보이지 않았다.

② PCB126의 영향

난황형성기에서는 100 ng/ml의 PCB126 실험구에서 E2의 생성을 촉진하였다.

이상의 결과를 보면, NP와 PCB126 모두 난황형성기 때 E2 생성을 촉진시켰으나 본 연구에 사용된 농도보다도 더 낮은 농도에서의 재실험이 요구된다.

참고문헌

- Fent, K and J. Hunn. 1992. Uptake and elimination of tributyltin in fish-yolk-sac larvae. Mar. Environ. Res. 65-71.
- Van Der Kraak, G., M.E. McMaster and K.R. Munkittrick. 1995. Application of reproductive physiological testing to understand the mechanisms of

- environmental endocrine disruptors. In: Proceedings of the 5th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. Goetz, F.W. and P. Thomas, eds. Austin, Texas, pp. 173-175.
- Sumpter, J.P. and Jobling, S. 1995. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health Perspect.*, 103, 173-179.