

참붕어 (*Carassius auratus*)의 Hydroxytamoxifen과 17 α -Ethinylestradiol 노출에 대한 용량반응성 평가

민은영 · 이옥현 · 김광섭 · 김대중* · 강주찬
부경대학교 수산생명의학과, *국립수산과학원 양식개발팀

서론

1999년부터 국내에서는 매년 내분비장애물질에 의한 생태영향조사를 실시하고 있다. 특히 붕어의 암·수 성비를 모니터링 한 결과 (2000~2003년) 암컷 비율이 수컷에 비해 매우 높은 현상이 관찰되었다. 이는 붕어의 생식기계 및 vitellogenin (VTG) 농도 변화를 조사함으로써 생태계 이상 현상이 내분비계 장애물질에 의한 것인지의 여부와 원인 요소를 파악하기 위한 체계적인 접근이 필요함을 시사한다. 따라서 본 연구에서는 estrogenic한 물질로 알려진 17 α -Ethinylestradiol (EE2)와 대표적인 anti-estrogenic한 Hydroxytamoxifen (TAM)을 이용하여 국내 서식종인 참붕어 (*Carassius auratus*)의 용량반응을 평가하였다.

자연 생태계로 유입되고 있는 오·폐수에는 내인성 호르몬인 estradiol (E2)와 이의 대사산물인 estrone (E1), estriol (E3)와 피임약에 쓰이고 있는 합성 호르몬인 EE2와 같은 estrogenic 물질이 포함되어 있다고 보고되어왔다 (Spengler *et al.*, 2001). TAM은 estrogen 수용체와 복합체를 이루어 핵 염색질에 결합하는 그 결합 양상이 estrogen과 다르게 비정상적이고, 결합 시간 또한 긴 것으로 알려져 있다. 세포내에서 TAM은 유리된 estrogen 수용체를 소멸시키는 작용을 하여 estrogen의 정상적인 작용을 방해한다.

VTG 합성은 그 유전자 발현을 시작점으로 단백질 합성으로 이어지는 일련의 내분비학적 network를 통해 이루어지기 때문에 외부적으로 기인한 내분비 장애물질의 자성호르몬 효과로 인한 영향을 보다 체계적 방법으로 연구하기 위한 생물학적 지표로 이용되어져 왔다 (Kime *et al.*, 1999). 따라서 본 연구의 목적은 estrogenic 물질로 알려진 EE2와 anti-estrogenic한 TAM에 대하여 용량 의존적 반응을 파악하기 위하여 붕어의 HSI, GSI, 혈중 VTG 농도변화 및 혈중 estradiol-17 β (E2)와 testosterone (T)과 같은 sex steroid 호르몬의 농도변화를 조사하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 참붕어는 충청북도 내수면연구소에서 분양받아 치어용 부상사

료 (천하제일사료, 한국)를 공급하면서 실험실에서 4주간 순치시킨 후, 건강한 개체 (1.46 ± 0.05 g, 4.64 ± 0.69 cm)를 선별하여 50 L 유리 수조에 입식하였다. 한 수조당 70 마리의 실험어를 수용하였고, 정수식 방법으로 실시하였으며, 2일 마다 환수하였다. 실험 용액, TAM (Sigma Chem. Co. Inc., USA)는 GR급 에탄올 (Merck Co., Germany)로 희석하여 1 g/L 표준용액을 만들어 사용하였고, 실험농도는 0, 2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{g/L}$ 로 설정하였다. EE2 (purity 98%, Sigma, Deisenhofen, FRG)는 아세톤 (Merck, Darmstadt, FRG)에 희석하여, 실험 농도 0, 0.1, 0.5 $\mu\text{g/L}$ 로 사용하였다. 노출 기간은 24주간이었으며, 시험 종료 시점에 실험어의 체장, 체중, 전중 및 간중량 (HSI), 생식소중량 (GSI)를 측정하였다. 붕어의 혈중 VTG의 농도는 붕어 VTG에 대한 모노클론항체를 이용한 ELISA법으로 정량하였고, 혈중 E2 및 T의 농도는 RIA를 이용하여 정량하였다.

결과 및 요약

TAM에 노출시킨 붕어의 HSI는 8 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의한 감소를, GSI는 16 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의한 감소를 보였다. EE2에 노출시킨 붕어의 HSI와 GSI는 0.5 $\mu\text{g/L}$ 농도에서 유의한 감소를 나타내었다. TAM에 노출된 붕어의 혈중 VTG 농도는 16과 32 $\mu\text{g/L}$ 구간의 수컷에서 유의한 감소가 관찰되었고, 암컷의 경우에는 TAM 전 농도구간에서 유의성이 없었다. EE2의 경우 0.5 $\mu\text{g/L}$ 구간의 수컷에서만 유의한 증가를 보였으며, 역시 암컷에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 혈중 E2는 EE2에 노출된 경우, 0.5 $\mu\text{g/L}$ 구간의 수컷에서만 유의한 증가가 관찰되었고, TAM에 노출된 붕어의 혈중 E2는 수컷의 경우 4 $\mu\text{g/L}$ 농도 이상의 구간에서는 검출되지 않았고, 대조구와 2 $\mu\text{g/L}$ 구간에서만 20 pg/mL이 검출되었다 ($P < 0.05$). TAM에 노출된 수컷 붕어의 혈중 T의 농도는 2, 4, 8 $\mu\text{g/L}$ 구간에서 높은 수치를 보였으나 ($P > 0.05$), 16과 32 $\mu\text{g/L}$ 구간에서는 유의성이 없었다. 암컷의 경우 4와 8 $\mu\text{g/L}$ 구간에서만 유의하게 높은 E2 농도가 관찰되었고, 그 외 구간에서는 유의성이 없었다. EE2의 경우에는 전 구간, 암컷과 수컷에서 T의 농도가 유의하게 감소하였다.

참고문헌

- Kime, D. 1999. A strategy for assessing the effects of xenobiotics on fish reproduction. *Sci. Total Environ.* 225, 3-11.
- Spengler, p., Korner, W., Metzger, J.W., 2001. Substances with estrogenic activity in effluents of sewage treatment plants in southwestern Germany, 1. Chemical analysis. *Environ. Toxicol. Chem.* 20(10), 2133-2141.