

유기주석화합물이 명주조개 (*Coelomactra antiquata*)의 약물대사효소계에 미치는 영향

전중균⁺ · 이미희 · 김도진 · 심원준* · 오재룡* · 이수형*
강릉대학교 해양생명공학부/동해안해양생물자원연구센터 (EMBRC)
*한국해양연구원 해양환경기후연구본부

Effects of Trialkyltin *in vitro* on the Microsomal Monooxygenase System of Digestive Gland in the Clam, *Coelomactra antiquata*

Joong-Kyun JEON⁺, Mee-Hee LEE, Do-Jin KIM, Won-Joon SHIM*
Jae-Ryong OH* and Soo-Hyung LEE*

EMBRC, Kangnung Nat'l University, Gangneung 210-702, Korea
*KORDI, Ansan, Gyeonggi-do 425-170, Korea

This study was carried out to measure the *in vitro* interaction of trialkyltin with the microsomal monooxygenase (MFO) system of the clam, *Coelomactra antiquata*. Cytochrome P450 (CYP) level and 7-ethoxyresorufin-*O*-deethylase (EROD) activity were investigated in the microsome isolated from digestive gland of the clam (*C. antiquata*) exposed to tributyltin chloride (TBTC), bis-tributyltin oxide (TBTO) and triphenyltin chloride (TPTC). The specific contents of CYP in clam microsome exposed to 0.4 mM TBTC, TBTO and TPTC for 20 minutes were decreased 52, 72 and 40%, respectively, compared to control group. The EROD activities also were inhibited by exposure to TBTO (92%) and TPTC (85%) except for TBTC. The level of CYP and the EROD activities were decreased according to the OTC exposure concentrations. The toxic effects on the level of CYP and the EROD activities were in order of TPTC > TBTC > TBTO in this study. The measurement of CYP level and EROD activity could be applied as a biomarker for environmental study.

Key words: Organotin, TBTC, TBTO, TPTC, MFO, Cytochrome P450, EROD, Clam, *Coelomactra antiquata*

서 론

유기금속의 일종인 유기주석화합물 (organotin compounds, OTC) 중 3개의 치환된 알킬기를 갖는 trialkyltin은 생물에 대한 살상력이 뛰어나 농약이나 보존제로 쓰이기도 하지만 주로 선박이나 해양구조물의 방오제로 쓰인다. 특히, 방오제로 쓰이는 OTC는 선박 표면으로부터 직접 용출되어 표적생물은 물론 비표적 (non-target) 생물에게도 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다. 예를 들면 프랑스의 패류양식장에서는 tributyltin (TBT)이 패류의 생산량 감소와 관련이 있는 것으로 알려졌으며 (Alzieu, 1991), 굴이나 홍합과 같은 유용 이매패류 치패의 치사의 원인물질로 보고되기도 하였고 (Beaumont and Budd, 1984), 영국에서는 dogwhelk가 번식장애를 일으킨다고 한다 (Gibbs et al., 1987). 특히, TBT 및 triphenyltin (TPT)은 신복족류 (neogastropod)의 암컷 개체에서 수컷 성징이 발현되는 임포섹스 (imposex)를 유발하여 내분비계장애물질 (endocrine disruptors)의 일종으로 분류되고 있으며 (Shim et al., 2000), 임포섹스 현상은 해수 중 TBT 농도가 1 ppt의 정도에서도 일어난다고 한다 (Gibbs et al., 1987). 더욱이 TBT는 해양생물에게 비선택적으로 영향을 미치기 때문에 환경적 측면에서도 많은 관심을 모으고 있다.

Cytochrome P450 (CYP) monooxygenase 효소계는 mixed function oxygenase (MFO) 라고도 하며, 다성분 효소복합체로서 주로 체내에서 지방산이나 호르몬과 같은 내인성 화합물을 대사하는 중요한 역할을 하지만, 또한 OTC나 다방향족탄화수소화합물 (polynuclear aromatic hydrocarbons, PAHs)이나 다염소비페닐류 (polychlorobiphenyls, PCBs)와 같은 외인성 오염물질 (xenobiotics)을 대사하여 체내에서 빨리 배설되도록 하는 역할도 맡는다. 그 중 대표적인 것이 CYP인데, 패류에서는 효소학적으로나 면역학적 및 분자생물학적인 연구를 통해 적어도 21개 이상이 확인되었다 (Livingstone, 1991, 1996).

OTC가 수계생물에게 미치는 독성에 관해서는 비교적 많이 조사되었는데 (Fent, 1996), 1 ppb 이하의 농도에서도 어패류의 면역계에 영향을 미쳐 조직에 이상을 야기시키며 (Bushong et al., 1988), 굴이나 대합 또는 홍합 유생은 각각 0.73, 0.97 및 0.05 ppb의 낮은 농도에서도 만성독성이 나타난다고 한다 (Valkirs et al., 1991; Lapota et al., 1993).

이렇듯 세계 여러 나라에서는 생물독성 (biocide)이 강하여 사용이 제한되거나 금지된 유기주석화합물이지만 우리나라에서는 해양생물에 미치는 영향에 관한 연구는 미흡한 실정이다 (Tak and Kim, 1999, 2001; Na et al., 2000; Shim, 2000). 국내 연안에 대한 OTC 오염은 특히 항구나 조선소가 위치한 만 안쪽에서 높았고 (서울대학교, 1996), 거의 모든 지역의 대수리, 참굴, 진주담

⁺Corresponding author: jkjeon@kangnung.ac.kr

치 등의 패류는 OTC에 노출되었으며, 신복족류인 대수리의 임포섹스 발현 정도는 TBT 농도와 직접적인 상관관계가 있음이 한국 해양연구소 (1996)의 연구로 밝혀졌다. 따라서 본 연구는 이러한 상황 하에서, OTC가 패류에 미치는 영향을 살펴 보고자 동해 북부연안의 사질에 많이 서식하는 명주조개 (*Coelomactra antiquata*)를 대상으로 중장선의 마이크로솜을 OTC와 함께 *in vitro*적으로 배양하여 마이크로솜 중 MFO 효소계의 CYP와 7-ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) 활성의 변화를 조사한 것이다.

재료 및 방법

1) 노출시약

노출시약으로는 TBTC (tributyltin chloride), TBTO (tributyltin oxide) 및 TPTC (triphenyltin chloride)를 사용하였으며 모두 Aldrich사에서 구입하였고, 이들을 희석하는데 사용한 DMSO (dimethylsulfoxide)를 비롯하여 마이크로솜의 제조나 효소 측정에 사용한 모든 시약은 Sigma사의 특급시약을 사용하였다.

2) 마이크로솜의 제작

실험에 사용한 명주조개 (*C. antiquata*)는 강릉시 주문진의 패류시장에서 2001년 8월에 구입하였으며, 살아있는 것을 연구실로 옮겨 여과해수가 담긴 수조에서 충분히 통기하면서 1일간 안정화시켰다. 그리고는 명주조개의 내장낭 부위를 적출한 다음 불필요한 조직을 가위로 충분히 떼어내고 중장선 (digestive gland) 조직의 일부를 사용하여 마이크로솜을 만들었다. 즉, 중장선을 모아 인산완충액 (0.1 M $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ -20% glycerol, pH 7.4)으로 균질화 한 다음에 원심분리 (8,000×g, 20 minutes, 4°C)를 하고 상등액을 모아 초원심분리 (100,000×g, 120 minutes, 4°C)하여 원심관 하부에 가라앉은 pellet을 상기한 인산완충액 (pH 7.4)으로 재현탁 하였다. 이렇게 만든 마이크로솜을 합쳐 균일하게 하고는 여러 개의 microtube에 소량씩 분주하여 -150°C의 초저온냉동고에 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

3) *In vitro* 배양

OTC 배양구와 비교하기 위하여 마이크로솜만의 대조구와 마이크로솜에 DMSO나 생리식염수를 첨가한 sham구를 설정하였으며, OTC 배양구는 마이크로솜에 TBTC, TBTO 또는 TPTC를 각각 0.1~1.0 mM의 농도가 되도록 첨가하였다. 이들 각 실험구는 30°C의 수조에서 30분까지 배양하면서 '4) 약물대사효소의 측정'에 기술된 방법에 따라 CYP 함량과 EROD 활성을 측정하였으며, 각 실험별로 3반복 실시하였다. 그리고 각 노출구는 OTC를 첨가하기 전의 CYP 농도를 측정하여 이를 100%로 하고, 노출시약과 함께 배양하면서 측정된 CYP 농도를 상대적으로 나타내었다.

4) 약물대사효소의 측정

CYP 농도의 측정은 Omura and Sato (1964)의 방법을 따랐으며, EROD 활성의 측정은 Burke and Mayer (1974)의 방법을 따랐다. 즉, CYP 농도는 마이크로솜에 환원제로 sodium dithionite를 소량

첨가한 다음에 CO 가스를 약 30초간 통기하고 나서 UV/VIS 분광광도계 (Shimadzu 1601-PC, Japan)를 사용하여 450과 490 nm의 차이스펙트럼 (difference spectrum)을 측정하였으며, 분자흡광계수는 $91 \text{ cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$ 으로 정량하였다. 한편, EROD 활성의 측정은 마이크로솜에 NADPH 재생계 용액 (0.1 M 인산염완충액/glucose-6-인산염/glucose-6-인산염 탈수소효소/NADP⁺)을 첨가한 다음에 기질인 7-ethoxyresorufin을 넣고 일정시간 반응시켜 생성되는 resorufin의 농도를 형광분광계 (Shimadzu RF-5301PC, Japan)로 측정 (Ex. 550 nm, Em. 585 nm)하여 정량하였다. 그리고 마이크로솜의 단백질 농도는 Lowry et al. (1951)의 방법으로 정량하였다.

결과

명주조개 (*C. antiquata*) 중장선 마이크로솜의 약물대사효소의 변화를 조사하기 위해서 일정량의 마이크로솜에 TBTC, TBTO 및 TPTC를 각각 0.1 mM~0.8 mM의 농도로 첨가하여 30°C에서 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20분간 배양하여 CYP 농도의 변화를 조사한 결과는 Figs. 1~3과 같다.

대조구의 CYP 농도는 처음에 $0.33 \text{ nmol mg}^{-1}$ 단백질의 수준이던 것이 배양 20분 후에는 $0.26 \text{ nmol mg}^{-1}$ 단백질로 되어 81%로 감소하였다. 이것은 마이크로솜 단백질이 시간이 흐름에 따라 변성

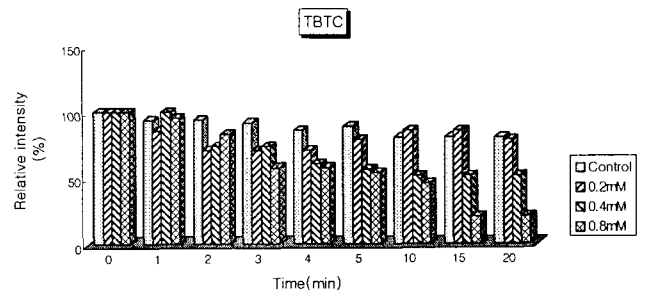


Fig. 1. Time-course *in vitro* changes of CYP content of the digestive gland microsome in the clam, *Coelomactra antiquata*, with exposure to different concentration of TBTC. Data expressed as percentage of 0 min incubation.

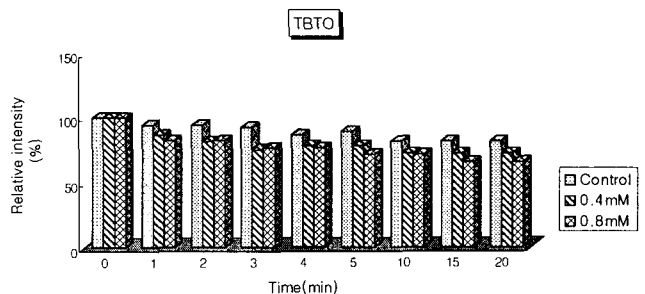


Fig. 2. Time-course *in vitro* changes of CYP content of the digestive gland microsome in the clam, *Coelomactra antiquata*, with exposure to different concentration of TBTO. Data expressed as percentage of 0 min incubation.

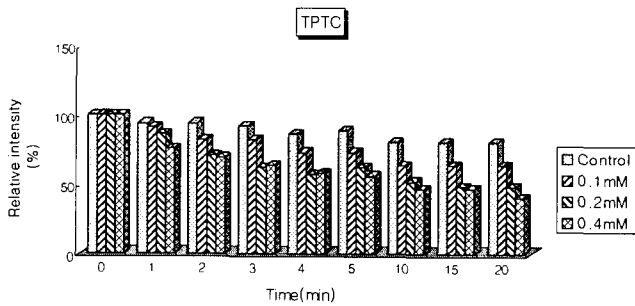


Fig. 3. Time-course *in vitro* changes of CYP content of the digestive gland microsome in the clam, *Coelomactra anti-quata*, with exposure to different concentration of TPTC. Data expressed as percentage of 0 min incubation.

함으로서 CYP 농도가 줄어든 것이라 여겨진다. TBTC에 노출시켰을 경우 (Fig. 1), 0.2 mM의 농도로 배양하였을 경우에는 1분 후에는 처음 수준의 86%로 줄었으나 이후 크게 감소하지 않아 20분 후에도 79%였는데, 이 수준은 대조구의 수준과 큰 차이가 없었다. 그리고 0.4 mM로 배양한 경우에는 배양 2분 후에 74%로 급격히 감소하였고 이후에도 배양시간과 더불어 계속 줄어들어 20분 후에는 52%까지 줄었다. 이와 같이 급격하게 감소하는 경향은 0.8 mM로 배양하였을 경우에도 마찬가지였으며, 배양 2~3분 후에도 58%까지 감소하였고 20분 후에는 21%까지 줄었다.

TBTO에 노출시킨 경우 (Fig. 2), 0.4 mM로 배양한 것은 3분 후에 75%로 감소하였으나 이후에는 크게 줄지 않아 20분 후에도 72% 수준을 유지하였다. 그리고 0.8 mM로 배양한 것은 배양 중 점차 감소하여 20분 후에 65%까지 감소하였다.

TPTC에 노출시킨 경우 (Fig. 3)에는 0.1 mM 농도구가 배양 초기인 2분 후부터 82%로 급격히 감소하였고 이후에도 점차 감소하여 노출 20분 후에는 64%까지 감소하였다. 그리고 0.2 mM로 배양한 것은 1분 후에 86%로 줄었고 이후에도 크게 줄어 20분 후에는 48%까지 함량이 감소하였으며, 0.4 mM 농도구는 1분 후에 76%로 급속하게 감소하였고 10분 후에는 47%, 20분 후에는 40%로 되어 가장 크게 줄었다. 그러나 0.8 mM 농도로 배양하였더니 탁도 (turbidity)가 커서 CYP 농도를 측정할 수 없었다.

한편, 어류를 비롯한 척추동물에서 CYP1A1의 특이효소로 알려진 EROD의 활성 변화를 조사하기 위해 미크로솜에 TBTC, TBTO 및 TPTC를 0.1 mM~1.0 mM의 농도로 첨가하여 30°C에서 0, 5, 10, 20, 30분간 배양하여 EROD 활성을 측정하였다. 이때는 sham구를 기준으로 설정하였는데, 즉 미크로솜에 OTC를 희석하는데 사용하였던 DMSO만 2% 농도로 첨가하여 30°C에서 0~20분간 배양하였다. Sham구와 모든 노출구에서는 DMSO와 OTC를 첨가하기 전의 EROD 활성을 측정하여 이들 값을 100%로 하였고, OTC를 첨가하여 배양하면서 측정된 효소활성을 상대적으로 나타내었다.

Sham구의 최초 EROD 활성은 68 pmol min⁻¹ mg⁻¹ 단백질의 수준이었으며 배양하면서 약간 증가하여 74 pmol min⁻¹ mg⁻¹ 단백질의 수준 (108%)이 되었다. 그러나 TBTC로 배양 시 (Fig. 4), 0.1 mM과 0.4 mM로 배양한 것은 배양 30분 후에도 sham구와 별

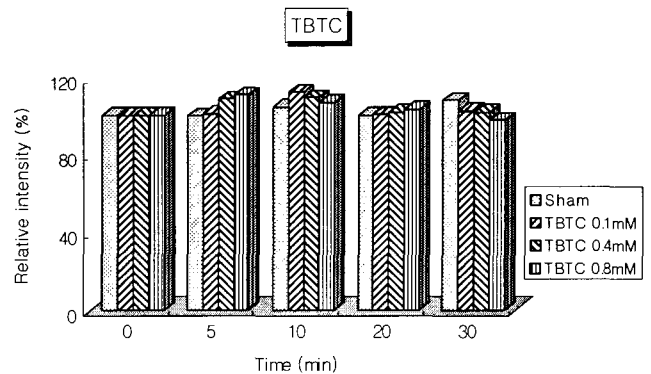


Fig. 4. Time-course *in vitro* changes of EROD activity of the digestive gland microsome in the clam, *Coelomactra anti-quata*, with exposure to different concentration of TBTC. Data expressed as percentage of 0 min incubation.

차이가 없이 약 102% 수준을 유지하였고, 0.8 mM로 배양한 것은 30분 후에 98% 정도로 다소 감소하였다. 그리고 TBTO와 배양한 경우 (Fig. 5)에는 0.1 mM, 0.4 mM 및 0.8 mM에서는 30분 후에 각각 99%, 92% 및 91%로 감소하는데 지나지 않았다. 그러나 TPTC와 배양한 경우 (Fig. 6)에는 저해정도가 앞의 butyltin류 보다는 커서 0.1 mM과 0.4 mM 및 0.8 mM로 배양한 것은 30분 후에 EROD 효소활성이 각각 83%, 85% 및 85%로 낮아졌다.

고찰

일반적으로 동물의 간장에는 수많은 효소와 단백질이 들어있으며, 이들 중 일부는 해독기능과 관련이 있는 것들이어서 대상 동물이 오염물질에 노출되었는지를 알 수 있는 간접적인 지표로 이용된다 (Goksøyr and Förlin, 1992). 이들 중에서 가장 널리 쓰이는 것으로는 메탈로치오닌 (metallothionein)과 CYP가 있는데, 이들은 어류의 항상성 (homeostasis)을 유지하는데도 관여한다. 즉, CYP는 어류 내에서 만들어진 성호르몬이나 지방산과 같은

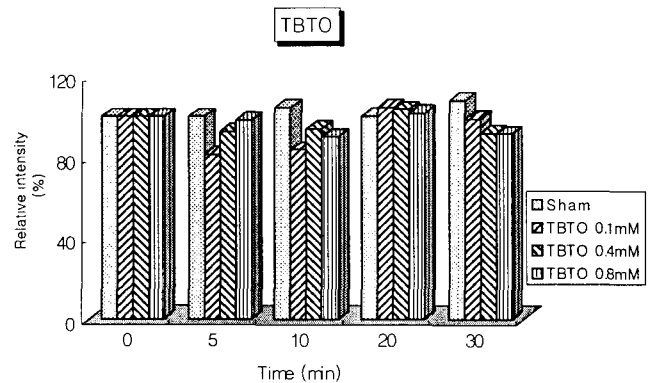


Fig. 5. Time-course *in vitro* changes of EROD activity of the digestive gland microsome in the clam, *Coelomactra anti-quata*, with exposure to different concentration of TBTO. Data expressed as percentage of 0 min incubation.

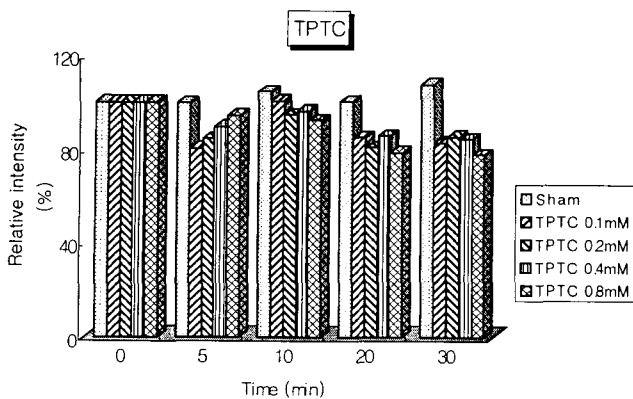


Fig. 6. Time-course *in vitro* changes of EROD activity of the digestive gland microsome in the clam, *Coelomactra antiquata*, with exposure to different concentration of TPTC. Data expressed as percentage of 0 min incubation.

화학물질의 분비와 불활성화에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다 (Kime, 1998).

약간의 예외가 있기는 하지만 대체로 이들 단백질 성분은 외인성 유해물질에 대해 생체를 보호하는 역할을 하므로 생체는 항상성을 유지하기 위해 이들 단백질이 만들어지도록 자연스럽게 자극하지만 금속이나 유기물질에도 자극되어 항진되기도 한다. 그런데 이들의 항진은 당연히 화학평형을 유지하려는 생체의 정상적인 기능을 교란시키게 되므로, 스테로이드 호르몬의 생산과 대사에 관여하는 CYP가 인위적인 모방물질에 의해 영향을 받는다면 체내의 정상적인 호르몬의 균형은 깨지게 된다 (Kime, 1998).

TBT가 해양생물에 미치는 영향에 관해서는 주로 어류의 CYP를 포함하는 MFO 효소계에 미치는 독성의 측면에서 많이 연구되었다. MFO 효소계는 여러 성분의 효소복합체로서 CYP와 cytochrome b5 및 이들의 환원효소가 포함된다. 패류에서는 효소적으로나 면역학적 및 분자생물학적인 연구를 통해 CYP의 여러 이소자임이 확인되었는데 (Livingstone, 1996), 적어도 21개 이상의 관련 성분들이 확인되었다 (Livingstone, 1991). 즉, 어류에서는 *in vitro* (Fent and Stegeman, 1991)와 *in vivo* (Fent and Stegeman, 1993)의 여러 실험에서 TBT가 CYP의 여러 이소자임에 저해적으로 작용한다는 것이 보고되었으나, 해산무척추동물에게 미치는 영향에 관해서는 많이 알려지지 않았으며, 최근 blue crab (Oberdörster et al., 1998a)이나 권패류 *Ilyanassa obsoleta* (Oberdörster et al., 1998b), 몇 종류의 이매패류 (Morcillo and Porte, 1997, 2000; Livingstone, 1989; Matthiessen and Gibbs, 1998; Morcillo et al., 1998; Solé et al., 2000)의 MFO 효소계에 미치는 *in vitro*나 *in vivo*적 영향이 보고되고 있을 정도이다.

본 실험에서는 강원 북부 연안에 많이 서식하는 명주조개 (*C. antiquata*)가 OTC에 의해 받는 영향을 조사하는 연구의 일환으로 이들 OTC가 조개의 약물대사효소인 CYP와 EROD 활성에 *in vitro*적으로 미치는 영향을 조사하였다.

어류의 경우에는 간장, 아가미, 신장 등 여러 조직에 MFO 효소계가 분포하지만 특히 활성이 강한 조직은 간장이다. 본 연구

에서는 MFO 효소계의 활성과 농도가 가장 강하다 (Livingstone, 1991)고 알려진 증장선을 사용하여 마이크로솜을 만들었다.

OTC와 배양한 마이크로솜의 CYP 농도는 배양시간이 지날수록 감소하였고 (Figs. 1~3), 이것으로 미루어 TBTC, TBTO 및 TPTC는 명주조개의 CYP에 저해적으로 작용한다는 것을 알 수가 있었으며, 이와 같은 결과는 앞서의 여러 연구자들의 연구결과 (Oberdörster et al., 1998a, 1998b; Morcillo and Porte, 1997; Solé, 2000)와도 일치한다. 한편, 패류 CYP 함량은 TBTC, TBTO, TPTC에 의해서 수 분~수 십분 간의 짧은 노출로도 함량이 상당히 감소함으로써 단시간에 저해를 받는다는 것을 확인하였는데, 저해되는 정도는 실험에 사용한 모든 OTC에서 배양 농도가 높을수록 커져 농도 의존적인 경향을 보였다. 그리고 TPTC 첨가시 0.8 mM에서는 타도가 심하여 CYP 함량을 측정할 수가 없었는데, 이처럼 TPTC는 일정 농도 이상에서 타도가 심해져서 스펙트럼의 기준선이 흔들린다는 것이 Fent and Bucheli (1994)에 의해서도 관찰된 바 있다. Trialkyltin의 저해 효과를 CYP를 얼마나 저해하는지에 따라 비교하였더니 TPTC>TBTC>TBTO 순이어서 butyltin 화합물보다는 phenyltin 화합물이 더 강하게 저해 작용을 보인다는 것을 알 수 있었다. 이처럼 OTC간에 CYP의 저해효과에 차이가 있는 것은 이들 화합물의 옥탄올-물 분배계수 (*n*-octanol/water partition coefficient, K_{ow})에 차이가 있는 것과도 관련이 있을 것이다. 즉, TPT의 분배계수 ($\log K_{ow}=4.1$)는 TBT ($\log K_{ow}=3.1$)에 비해 높는데 (Thompson et al., 1985), 이로 인해 세포막을 구성하는 지질층과의 친화성 또는 투과성에 차이가 나기 때문이라 여겨진다.

한편, 척추동물의 CYP1A1에 특이적으로 작용한다고 알려진 탈알킬화 효소인 EROD 활성 (Goksøyr, 1995)에 대한 OTC의 저해정도를 조사한 결과 (Figs. 4~6), EROD 활성도 역시 OTC에 의해 저해되는 것으로 관찰되었다. 그러나 TBTC와 TBTO로 배양한 경우에는 배양 농도나 시간에 따른 저해 정도가 CYP 함량에서처럼 크지 않았고, 다만 TPTC 배양구는 배양 시간과 농도에 따른 감소경향이 뚜렷하기는 하였다. 한편, 이와 관련하여 본 연구자들이 넓치 간장의 마이크로솜을 사용하여 OTC의 EROD 저해능력을 *in vitro*로 조사한 실험에서는 OTC의 농도와 배양시간에 따라 뚜렷하게 효소 활성이 저해되었는데 (미발표자료), 이렇듯 OTC에 대한 EROD 활성이 어류와 패류간에 차이가 나는 것에 관해서는 Livingstone et al. (1997)의 지적처럼 어류와 패류에서 CYP1A1의 구조나 성질에 차이가 있기 때문이라 하였다.

OTC는 1 ppb 이하의 농도라도 패류의 면역계에 영향을 미치고 조직에 이상을 일으키며 (Bushong et al., 1988), 굴이나 대합은 각각 0.73과 0.97 ppb의 낮은 농도에서도 만성독성이 나타나고 (Valkirs et al., 1991), 홍합 유생은 0.05 ppb에서도 나타난다고 한다 (Lapota et al., 1993). 게다가 OTC는 소수성 화합물인데다 이때는 이들의 대사속도가 느리기 때문에 (Livingstone, 1989), 이들 화합물이 어떤 경로를 통해서건 패류 조직에 축적되면 내인성의 지방산이나 호르몬을 대사 할 뿐만 아니라 외인성 유해물질의 대사에 중요한 MFO 효소계에 적지 않은 영향을 미칠 것이다. 따라서 이들 효소계와의 상호반응은 해당 동물의 오염물질 처리능력과 번식능력의 차원에서도 중요하다. 패류는 조직에 축적된

OTC의 농도에 따라 생식이 영향을 받게 되고 결국에는 패류 자원의 감소로도 이어질 수가 있으므로, 앞으로는 우리나라에서도 각종 오염물질이 해양생물에 미치는 영향에 관하여 더욱 깊이 있게 연구할 필요가 있겠다. 그리고 본 연구에서 OTC에 노출된 패류에서 명확하게 감소경향을 보였던 CYP와 EROD 활성은 오염에 노출된 패류에서 좋은 생체지표로 활용될 수 있을 것이다.

요 약

강원 북부연안에 많이 서식하는 명주조개 (*C. antiquata*)를 대상으로 중장선의 미크로솜을 *in vitro*로 유기주석화합물 (TBTO, TBTC, TPTC)과 배양하여 약물대사효소계의 cytochrome P450 (CYP)과 7-ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD)의 변화를 조사하였다.

그 결과, 이들 화합물은 모두 명주조개의 약물대사효소계를 짧은 시간 내에 저해한다는 것을 확인하였다. 즉, 미크로솜을 0.4 mM 농도의 TBTC, TBTO 및 TPTC와 20분간 배양한 후의 CYP 함량은 첨가하기 전에 비해 각각 52%, 72% 및 40%로 줄었는데, 이것으로 화합물의 종류에 따라서 저해 정도는 차이가 있었고 butyltin 화합물보다는 phenyltin 화합물의 저해 정도가 더 컸다. 그리고 EROD 활성의 경우도 0.4 mM의 TBTC, TBTO 및 TPTC와 20분간 배양하였더니 각각 100%, 92% 및 85%로 butyltin 화합물보다는 phenyltin 화합물의 저해가 더 컸다. 한편, TBTC, TBTO 및 TPTC 모두는 패류 중장선의 CYP와 EROD 활성을 농도의존적으로 저해하였으며, 그리고 두 효소는 모두 오염물질에 노출된 패류의 좋은 생체지표 (bioindicator)로 활용할 수 있을 것이라 여겨진다.

감사의 글

이 논문은 강릉대학교와 1998년도 한국학술진흥재단 (KRF-2001-001-H00065)의 지원에 의한 것입니다. 연구비를 지원해 주신 기관과 두 분의 심사자에게 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Alzieu, C. 1991. Environmental problems caused by TBT in France: Assessment, regulations, prospects. *Mar. Environ. Res.*, 32, 7~18.
- Beaumont, A.R. and M.D. Budd. 1984. High mortality of the larvae of the common mussel at low concentrations of tributyltin. *Mar. Pollut. Bull.*, 15, 402~405.
- Burke, M.D. and R.T. Mayer. 1974. Ethoxyresorufin: Direct fluorometric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholantrene. *Drug Metab. Disp.*, 2, 583~588.
- Bushong, S.J., L.W.J. Hall, W.S. Hall, W.E. Johnson and R.L. Herman. 1988. Acute toxicity of tributyltin to selected Chesapeake Bay fish and invertebrates. *Water Res.*, 22, 1027~1032.
- Fent, K. 1996. Ecotoxicology of organotin compounds. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 26, 1~117.
- Fent, K. and T.D. Bucheli. 1994. Inhibition of hepatic microsomal monooxygenase system by organotins *in vitro* in freshwater fish. *Aquat. Toxicol.*, 28, 107~126.
- Fent, K. and J.J. Stegeman. 1991. Effects of tributyltin chloride *in vitro* on the hepatic microsomal monooxygenase system in the fish *Stenetomus chrysops*. *Aquat. Toxicol.*, 20, 159~168.
- Fent, K. and J.J. Stegeman. 1993. Effects of tributyltin chloride *in vivo* on hepatic cytochrome P450 forms in marine fish. *Aquat. Toxicol.*, 24, 219~240.
- Gibbs, P.E., G.W. Bryan, P.L. Pascoe and G.R. Burt. 1987. The use of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 67, 507~523.
- Goksøyr, A. and L. Förlin. 1992. The cytochrome P450 system in fish, aquatic toxicology, and environmental monitoring. *Aquat. Toxicol.*, 22, 287~312.
- Goksøyr, A. 1995. Use of cytochrome P4501A (CYP1A1) in fish as a biomarker of aquatic pollution. *Arch. Toxicol., Suppl.*, 17, 80~95.
- Kime, D.E. 1998. Disruption of liver function. In *Endocrine Disruption in Fish*, D.E. Kime, ed. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 201~246.
- Lapota, D., D.E. Rosenberger, M.F. Platter Rieger and P.F. Seligman. 1993. Growth and survival of *Mytilus edulis* larvae exposed to low levels of dibutyltin and tributyltin. *Mar. Biol.*, 115, 413~419.
- Livingstone, D.R. 1989. Cytochrome P450 and oxidative metabolism in molluscs. *Xenobiotica*, 19, 1041~1062.
- Livingstone, D.R. 1991. Organic xenobiotic metabolism in marine invertebrates. In *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, Vol. 7, R. Gilles, ed. Springer-Verlag, Berlin, pp. 45~185.
- Livingstone, D.R. 1996. Persistent Pollutants in Marine Ecosystems. M. Richardson, ed. Taylor & Francis, London, pp. 143~160.
- Livingstone, D.R., C. Nasci, M. Solé, L.D. Ros, S.C.M. O'Hara, L.D. Peters, V. Fossato, A.N. Wootton and P.S. Goldfarb. 1997. Apparent induction of a cytochrome P450 with immunochemical similarities to CYP1A in digestive gland of the common mussel (*Mytilus galloprovincialis* L.) with exposure to 2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl and Arochlor 1254. *Aquat. Toxicol.*, 38, 205~224.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265~275.
- Matthiessen, P. and P.E. Gibbs. 1998. Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in molluscs. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, 37~43.
- Morcillo, Y. and C. Porte. 1997. Interaction of tributyl- and triphenyltin with the microsomal monooxygenase system of molluscs and fish from the Western Mediterranean. *Aquat. Toxicol.*, 38, 35~46.
- Morcillo, Y. and C. Porte. 2000. Evidence of endocrine disruption in clams - *Ruditapes desussata* - transplanted to a tributyltin-polluted environment. *Environ. Pollut.*, 107, 47~52.
- Morcillo, Y., M.J.J. Ronis, M. Solé and C. Porte. 1998. Effects of tributyltin on the cytochrome P450 monooxygenase system and sex steroid metabolism in the clam *Ruditapes decussata*. *Mar. Environ. Res.*, 46, 583~586.

- Na, O.S., S.R. Oh, Y.D. Lee, H.J. Baek and H.B. Kim. 2000. Effects of bisphenol A on the hatching of fertilized eggs and spawning of adult fish in songsari, *Oryzias latipes*. J. Korean Fish. Soc., 33, 378~382 (in Korean).
- Oberdörster, E., D. Rittschof and D. McClellan-Green. 1998a. Induction of cytochrome P450 3A and heat shock protein by tributyltin in blue crab, *Callinectes sapidus*. Aquat. Toxicol., 41, 83~100.
- Oberdörster, E., D. Rittschof and D. McClellan-Green. 1998b. Testosterone metabolism in imposex and normal *Ilyanassa obsoleta*: Comparison of field and TBTA Cl-induced imposex. Mar. Pollut. Bull., 36, 144~151.
- Omura, T. and R. Sato. 1964. The carbon-monoxide binding pigment of liver micromes. J. Biol. Chem., 239, 2370~2378.
- Shim, W.J., S.H. Kahng, S.H. Hong, N.S. Kim, S.K. Kim, J.H. Shim. 2000. Imposex in the rock shell, *Thais clavigera*, as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea. Mar. Environ. Res., 49, 435~451.
- Shim, W.J. 2000. A Study on the Environmental Chemistry and Toxicology of Organotins in the Marine Environment of Korea. A Ph. D thesis, Seoul National University, 263pp.
- Solé, M. 2000. Effects of tributyltin on the MFO system of the clam *Ruditapes desussata*: A laboratory and field approach. Comp. Biochem. Physiol., Part C, 125, 93~101.
- Tak, K.-T. and J.K. Kim. 1999. Acute toxicity of TBT influencing on the production of coastal olive flounder. Korean J. Life Science, 9, 333~340 (in Korean).
- Tak, K.-T. and J.K. Kim. 2001. The effect of TBT toxicity on survival and growth of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Korean Fish. Soc., 34, 103~108 (in Korean).
- Thompson, J.A., M.G. Sheffer, R.C. Pierce, Y.K. Chau, J.J. Cooney, W. P. Cullen and R.J. Maguire. 1985. Organotin Compounds in the Aquatic Environment: Scientific Criteria for Assessing Their Effects on Environmental Quality. National Research Council Canada, Ottawa, Canada, 284pp.
- Valkirs, A.O., B. Davidson, L.L. Kear, R.L. Fransham, J.G. Grovhoung and P.F. Seligman. 1991. Long-term monitoring of tributyltin in San Diego Bay California. Mar. Environ. Res., 32, 89~111.
- 서울대학교. 1996. TBT 오염실태 조사 및 대책 수립 연구. 농림수산부. 서울. 121pp.
- 한국해양연구소. 1996. 유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구 (I · II). 한국해양연구소보고서 BSPN 00324-983-4, 316pp.

2002년 1월 5일 접수

2002년 3월 25일 수리