

〈Review Paper〉

## 수서 환경독성 평가와 어류 Cytochrome P450 1A (CYP1A) 유전자

윤석주<sup>1,4</sup> · 김일찬<sup>2</sup> · 윤용달<sup>3</sup> · 이재성<sup>4\*</sup><sup>1</sup>한양대학교 자연과학연구소, <sup>2</sup>한양대학교 의과대학 생화학교실,  
<sup>3</sup>한양대학교 자연과학대학 생명과학과, <sup>4</sup>한양대학교 대학원 환경과학과Assessment of Toxic Effects in Aquatic Environment and  
the Fish Cytochrome P450 1A (CYP1A) GeneSeokjoo Yoon<sup>1,4</sup>, Il-Chan Kim<sup>2</sup>, Yong-Dal Yoon<sup>3</sup> and Jae-Seong Lee<sup>4\*</sup><sup>1</sup>The Research Institute for Natural Sciences, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea<sup>2</sup>Department of Biochemistry, College of Medicine, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea<sup>3</sup>Department of Life Science, College of Natural Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea<sup>4</sup>Department of Environmental Science, Graduate School, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

**Abstract** - The CYP1A gene is one of Cytochrome P450 drug-metabolizing enzymes with dose-dependant manner of gene expression and is useful to get the information of alterations on gene expression upon environmental contaminants as well as the biomarker of environmental contamination at the specific places. In this report, we further discuss the usefulness of CYP1A gene in relation to aquatic environmental contamination at several aspects.

**Key words** : Fish, CYP1A, Biomarker

## 서 론

공업기술의 발달과 더불어 인류는 극심한 환경오염문제에 직면해 있다. 환경오염을 완전하게 제거하는 것은 막대한 비용과 시간이 소요될 뿐 아니라, 실제적으로 많은 어려움이 있어 환경오염을 저감하는 노력이 최근 주요 관심사로 떠오르고 있다. 아울러, 환경오염물질이 생물체에 미치는 영향을 정확히 규명하여 대책을 마련하는 노력은 매우 중요한 사항이 되고 있다(Goksoyr 1995).

환경오염물질이 영향을 미치는 범위는 대기, 토양, 생물체 및 수환경 등으로 나눌 수 있다. 이 중 수환경의

오염은 환경오염물질(주로 화학물질)의 단순한 확산에 의해 이루어진다. 확산된 수환경오염물질은 희석되어 독성이 약해지거나 능동적 또는 수동적으로 수서생물들의 체내에 축적되고 먹이사슬을 통해 상위소비자의 체내에 축적되게 된다. 축적된 환경오염물질이 생체에 미치는 독성을 평가하는 방법으로 시료를 채취하여 직접 측정하는 방법이 주로 이용되었지만 이러한 방법은 분석방법이 용이하지 않고 비용이 많이 드는 단점을 갖고 있다. 물론 이러한 분석으로 잔류 환경오염물질의 축적 여부는 알 수 있지만 생체에 미치는 영향은 알 수 없다. 이러한 단점들을 극복하기 위해 체내에 축적된 환경오염물질의 분석을 위한 생물학적인 반응(주로 질병관련) 등의 가이드라인이 제시되기도 하였지만(ATSDR 1994a, b), 이러한 방법도 고가의 분석비용과 독성반응에 대한

\* Corresponding author: Jae-Seong Lee, Tel. 02-2290-0769,  
Fax. 02-2294-6270, E-mail. jslee2@hanyang.ac.kr

자료의 부족으로 큰 진전을 볼 수가 없었다. 이에 환경오염물질의 영향을 효과적으로 알기 위해 biomarker를 이용한 독성분석 방법이 개발되었고(Dickerson *et al.* 1994), biomarker를 통해 환경오염물질이 각 생물종에 미치는 직접적인 독성영향을 평가할 수 있게 되었다.

최근 심각한 사회문제로 부각된 다이옥신 등과 같은 환경오염물질은 우리들의 의지와 관계없이 일상생활 속에서 접촉하게 되어 사람 또는 기타 동물에게 큰 악영향을 주고있다. 그렇지만, 다이옥신과 같은 화학물질이 인간에 미치는 독성영향을 인간을 상대로 직접 실험해 보기에는 쉽지않다. 따라서, 실험동물 및 야생동물을 이용하여 환경오염의 정도를 biomarker들을 이용하여 monitoring하고 다이옥신이 생물체에 미치는 영향을 파악할 필요가 있다. 그러므로, 환경오염물질이 사람에게 미치는 영향을 정확히 평가할 수 있도록 여러 종류의 실험동물에서 다양한 종류의 biomarker의 개발이 이루어질 필요가 있다. 본 논문에서는 수환경의 환경오염과 관련하여 어류의 Cytochrome P450 1A (CYP1A) 유전자를 이용한 biomarker의 개발 현황 및 응용에 대한 전망을 제시하고자 한다.

## 수서 환경오염

물은 지구표면의 약 70퍼센트를 차지하고 있으며 지구상의 생명체의 생존에 필수 불가결한 자원이다. 오염물질에 따른 수중환경오염을 살펴보면 첫째로 생활하수나 축산폐수 등의 유기물질이 다량으로 포함된 오염물질이 물에 유입되어 영양성분이 과다하게 존재하는 부영양화 현상이다. 일반적인 경우에는 물에 유입된 영양성분은 물의 자정작용에 의하여 정화되지만 정화능력을 초과하는 영양물질이 유입될 경우에 생물학적 산소요구량이 크게 증가되어 수서생물이 살 수 없는 환경이 된다. 두번째로 화학물질에 의한 오염을 생각할 수 있다. 일반가정에서 사용하는 주방세제, 세탁용 세제나 산업폐수 등의 형태로 물로 유입되는데 이들 중에 포함된 화학물질들은 자연환경에서 잘 분해가 되지 않기 때문에 먹이사슬에 의해 축적되어 심각한 문제를 일으킬 수 있다. 또한 절연제로 사용되던 PCB는 사용이 금지된 현재에도 환경 중에 잔류하여 생태계에 심각한 영향을 끼치고 있다. 다이옥신이나 그 외의 내분비계장애물질의 경우는 생물체의 내분비계에 혼란을 일으켜 생식불능, 종양 등의 질병의 원인이 되기도 한다. 세번째로 중금속에 의한 오염이다. 대표적인 예로 미나마타병이 있는데 이는 1952년에 일본의 작은 어촌인 미나마타에서 발생한

집단 수는 중독이다. 공장폐수에 들어 있는 수은이 바다물로 유입되고 연안에 살던 어류와 패류에 오염되어 이를 섭취한 마을 사람들이 심한 구토, 복통, 설사를 일으켜 많은 사상자가 발생한 비극적인 사건이다. 카드뮴 중독에 의한 이따이이따이병도 유사한 예라 할 수 있다. 중금속은 수서환경으로 유입되면 분해되지 않고 토양이나 물을 오염시키게 된다. 이러한 중금속은 먹이사슬에 의해 이동되어 이를 섭취한 생물체에 치명적인 손상을 일으키게 된다. 그 외에도 혼치는 않지만 원자력발전에서 이용된 방사성 폐기물이나 냉각수 등에 의한 오염도 생각해 볼 수 있다.

본 논문에서 주목하고자 하는 오염형태는 화학물질에 의한 수서환경오염이다. 산업발전과 인간의 생활환경 변화와 함께 다양한 종류의 새로운 화학물질이 하루에도 수백여종씩 쏟아져 나오고 있다. 가정이나 공장에서 흘러나오는 무수한 화학물질이 폐수형태로 강, 바다로 흘러들어 우리가 매일 마시는 물과 식탁에 오르는 어류나 패류에 축적되어 돌아오게 되는 것이다. 이러한 화학오염물질이 생태계에 미칠 영향은 예측하기가 힘들다. 위에서 설명한 것처럼 수서환경은 생태계에서 매우 중요하게 여겨지는데 이는 대부분의 오염물질이 지속적으로 유입되고 최종적으로 축적되기 때문이다(Pritchard 1993). 또한 수서환경이 갖고 있는 독특한 면을 살펴보면 첫째로 공기 중에서는 휘발성을 띠지 않으나 수용성을 갖고 있는 물질의 경우는 육지환경에서는 환경오염을 일으킬 경우가 낮으나 수중환경에서는 매우 높아지는 특징을 갖고 있다. 두번째로 육지환경에서는 공기(산소)에 의해 오염물질이 쉽게 붕괴될 수 있으나 수중환경에서는 산소가 희박하므로 오염물질이 비교적 원상태로 보존되어 독성영향이 더 크게 나타날 수 있으며 이러한 조건들은 오염물질이 육지환경보다 수서환경에서 더 오래 보존되어진다는 것을 시사하고 있다(Ashok and Saxena 1995). 수서환경의 생물들은 지극히 제한된 생활환경 속에서 지내기 때문에 환경오염물질에 고스란히 노출된다는 점 때문에 수서환경이 오염에 민감한 이유이다.

## 환경오염 분석과 Biomarker

생물체를 둘러싸고 있는 주변환경에 존재하는 여러 종류의 화학물질이 생물체에 대해 어떤 위험요소를 갖고 있는가를 예측하고 평가하는 것이 환경독성학의 기본이라 할 수 있다. 환경오염에 대한 예측 및 평가는 첫째로 분석화학기술을 이용한 것이 있다. 이 방법은 가장

기본적이며 고전적인 평가 방법이라 할 수 있는데 여러 지역의 대기, 토양, 물 또는 생물체로부터 시료를 채취하여 각종 화학물질의 분포와 축적 정도를 분석하여 특정 지역의 환경오염 정도를 평가하는 방법이다. 이 분석방법의 장점은 분석감도와 특이성이 뛰어나다는 것이다. 반면에 많은 비용이 드는 것과 생물체의 화학물질에 대한 반응을 알 수 없다는 단점이 있다. 두번째로 소개할 immunoassay 또는 biosensor를 이용한 방법은 분석화학기술법의 대안으로 제시되기도 한다. Immunoassay의 경우는 화학적으로 특이성을 가진 항체를 이용하고 (Szurdoki *et al.* 1996), biosensor는 항체 또는 화학물질을 인식할 수 있는 molecule을 전기화학적 정보전달체에 결합시키는 방법으로 환경오염물질을 측정, 평가하게 된다 (Bender and Sadik 1998). 마지막으로 소개할 bioassay와 biomarker는 생물학적 효과와 그 기본 메커니즘에 기반을 두고 있으며 분석화학기법을 대체할 수 있는 매우 유용한 평가방법이다. 이들의 장점은 독성학적으로 특이적이며 신속하고 저렴한 분석방법이라는 점이다. 또한 분석화학기법으로는 단순히 오염물질의 측정농도와 분포밖에 설명할 수 없고 생물체의 반응이나 독성학적 영향에 대하여는 설명할 수 없으므로 이러한 생물체 기반의 평가방법은 매우 중요하다고 할 수 있다.

Bioassay는 *in vivo*와 *in vitro* assay로 나누어지며 *in vivo* assay는 실험적으로 필드 또는 실험실에서 실험동물에게 화학물질을 투여하여 실험대상에서 나타나는 독성변화를 관찰, 평가하는 방법이다. 이 실험방법은 효과적으로 어떤 환경오염물질의 독성영향에 대해 평가하여 생체에 대한 영향을 추측할 수 있는 장점이 있다. 단점으로는 많은 비용과 시간이 소요되는 것이다. *In vitro* bioassay는 세포배양 또는 세포 추출물을 이용하여 환경오염물질에 대한 반응을 관찰하는 방법이다. 수용체 결합 실험, 효소억제 또는 배양세포 내에서의 유전자 발현 변화 등이 이에 속한다. 이 방법은 *in vivo* assay나 화학적 분석방법에 비해 시간, 경비 등을 절감시킬 수 있고 생물학적 특이성도 높은 장점이 있다. 하지만 화학물질에 의한 영향을 평가할 때 *in vitro* 결과를 *in vivo*에 적용시킬 경우에는 많은 어려움이 따르는 단점을 갖고 있다 (Hahn 2002).

Biomarker는 측정 가능한 생화학적, 생리학적, 행동관련 인자 등이 환경오염물질에 의해 생체 내에서 변화되는 것들을 총칭할 수 있다. 앞서 언급한 *in vivo* assay와 다른 점은 biomarker의 경우에는 환경오염물질을 인위적인 상태에서 투여하는 것이 아니라 자연환경상태의 생물체를 포획하여 biomarker를 분리, 정량함으로써 환경오염에 대한 생체의 반응과 환경의 오염상태를 직접

적으로 평가하는 것이다. 또한 특정 화학물질에 대해 특이적인 감수성 (susceptibility)도 필수적인 요소이다. 예컨대, 유기인제 또는 carbamate계의 농약에 대한 뇌의 cholinesterase의 억제, 납이나 기타 금속에 의한  $\delta$ -aminolevulinic acid synthetase의 유도 및 억제 (Scott 1977) 등과 본 논문에서 다루고 있는 다이옥신류에 의한 cytochrome P450 1A의 유도 등이 있다. 이러한 biomarker는 생물체의 환경오염물질에 대한 반응과 서식환경의 오염정도를 동시에 모니터링할 수 있는 유용한 방법으로 고려되고 있다.

지금까지 개발되어 있는 biomarker들은 기능 중심인 반면에 현재 진행중인 것들은 분자중심의 경향을 띠고 있다. 역학과 더불어 발달한 biomarker는 전세계적인 환경적 또는 유전적 질병에 관한 database를 구축할 수 있는 새로운 영역인 분자 역학 (molecular epidemiology)을 탄생시켰다 (Albertini 1999). 또한 분자생물학에 의한 biomarker의 개발은 작용기전을 알 수 있는 새로운 도구로써 의학과 생물학에 혁명적인 사건이 되었다 (Costa 1998). 또한, 최근들어 transgenic 기술을 이용한 biomarker가 소개되어 그 유용성에 관심이 모아지고 있다 (Amanuma 2000). 기존에 개발된 마우스를 이용한 MutaMouse, BigBlueMouse, HITEC 마우스 등이 있으나 (Campbell *et al.* 1996), 어류에서도 새로이 transgenic 모델동물을 제작하려는 경향이 있다. 어류에서 transgenic 모델을 개발하려는 이유는 수질오염을 수중환경에 서식하는 어류를 이용하여 조사한다는 생태독성 (ecotoxicology)적인 관점과 사육이나 투여가 용이한 점 등의 마우스에는 없는 소형어류만이 가지는 장점이 있기 때문이다 (Amanuma 2000).

## Cytochrome P450

Cytochrome P450 (P450 또는 CYPs)은 heme을 함유하고 있는 효소로서 약물대사반응의 제1상 반응에서 내인성 물질 (스테로이드, 지방산, 비타민, 프로스타글란딘, 레티노이드 등)과 외인성 물질 (화학적 오염물질, 약물, 발암물질 등)의 대사에 관여한다 (Coon *et al.* 1996; Guengerich 1990; Lewis 1997). P450으로부터 대사된 대사물은 친수성을 띠게 되며 일반적으로 대사전보다 약한 독성을 띠게 된다. 그러나 어떤 발암물질이나 화학물질 (Benzo[ $\alpha$ ]pyrene 등)은 P450에 의해 대사후에 더 강한 독성을 띠는 경우가 있다 (Guengerich 1992).

P450은 척추동물, 무척추동물, 식물, 곰팡이, 효모, 세균 등에서 발견된다. 포유류에서는 이미 수백여개의 P450

**Table 1.** Receptors mediating the induction of P450 enzymes

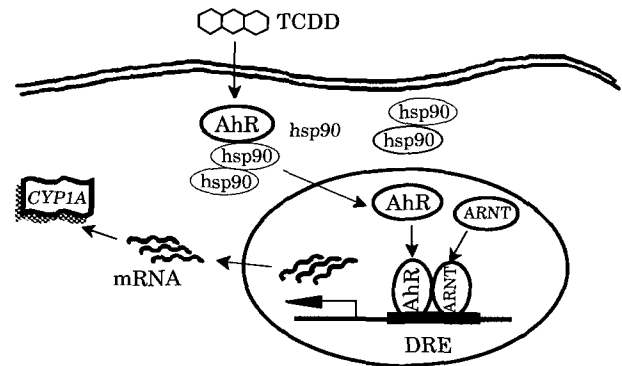
P450 enzyme	Receptor	Receptor ligand	Coreceptor
CYP1A	AhR	TCDD, PAH, $\beta$ -NF	Arnt
CYP2B	CAR $\beta$	Androstanol, Phenobarbital	RXR
CYP3A	PXR	PCN, Rifampin	RXR
CYP4A	PPAR $\alpha$	Peroxisome roliferators	RXR

Abbreviations: TCDD, 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; PAH, polycyclic aromatic hydrocarbons;  $\beta$ -NF,  $\beta$ -naphthoflavone; PCN, pregnenolone-16 $\alpha$ -carbonitrile (modified from Casarett & Doull's Toxicology, 6th ed. 2001).

이 발견되었으며 관련된 많은 연구가 진행되고 있다. 거대한 superfamily를 구성하는 이 효소군은 각기 다른 substrate와 metabolic product를 갖고 있다. 서로 다른 subfamily에 속해 있는 isozyme들은 그 그룹 특이적인 유도체와 nuclear receptor를 가지고 있는 것이 특징이다 (Table 1). Polyhalogenated aromatic hydrocarbon (PAH)에 의해 유도되는 CYP1A는 대부분의 척추동물에서 발견이 되고 있으나, phenobarbital 또는 non-planar polychlorinated biphenyl (PCB)에 의해 유도되는 CYP2B의 경우는 어류, 양서류, 파충류 등에서는 발견이 되지 않는다 (Nebert *et al.* 1989; Stegeman and Hahn 1994). CYP1A는 발암물질을 대사적 활성화 시켜 반응성이 높은 유전 독성물질을 생성하게 된다 (Ioannides 1990). 이러한 약리학적, 독성학적 특성 때문에 CYP1A의 경우는 cytochrome P450 isozyme 중에서 가장 많은 연구가 이루어져 왔다.

### AhR에 의한 CYP1A의 전사조절

1976년에 설치류에서 aryl hydrocarbon receptor (AhR)의 생화학적, 생리화학적 성질이 규명 (Poland *et al.* 1976)된 이후, 근래에는 분자적 성질까지 밝혀졌다. AhR은 DNA binding region에 있는 helix-loop-helix 요소를 갖고 있는 Per-Arnt-Sim family의 member이다 (Swanson and Bradfield 1993). 이 수용체의 ligand로는 환경오염 물질인 다이옥신, PCB를 포함한 PAH족이 있으나 내인성 ligand는 아직 발견되지 않고 있다 (Birnbaum 1994). Ligand와 결합하지 않은 상태의 AhR은 두 분자의 heat shock protein 90 (HSP 90)과 결합해 있는 형태로 존재한다. Ligand와 결합하게 되면 다른 단백질 분자들은 분리되어지고 ARNT (AhR Nuclear Translocator)와 결합하여 특정 DNA염기에 결합할 수 있는 형태로 변형되어진다. 변형된 AhR complex는



**Fig. 1.** The CYP1A induction via AhR response with dioxin ligand. Abbreviations: TCDD, 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; AhR, Aryl hydrocarbon receptor; hsp90, heat shock protein 90; ARNT, Ah-receptor nuclear translocator; DRE, dioxin response element; CYP1A, cytochrome P450 1A.

CYP1A와 다른 2, 3, 7, 8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 반응 유전자의 promoter에 존재하는 dioxin-responsive element (DRE)와 상호작용하여 유전자 전사를 활성화 시킨다 (Fig. 1). TCDD와 PCB는 AhR에 결합하여 CYP1A를 유도하게 되며 anti-estrogen 활성이 관찰되었다 (Safe 1994; Hahn 1998; Navas and Segner 1998, 2000). 이런 PAH 족 화학물질은 독성 유기화학물질로 분류되고 수백 종의 유도체가 존재하며 이들 중 많은 수가 AhR의 ligand로 작용한다. 이 화학물질들은 기본적으로 소각과정, 기름유출 또는 석유화합물을 이용한 공정과정에서 환경속으로 흘러 들어오게 된다.

### 어류 CYP1A

어류에서의 CYP1A는 환경오염물질로 분류되는 수많은 화학물질에 의해 유도되는 기본성질로 인해 수중환경오염의 biomarker로서 활용도가 높다 (Buhler and Wang-Buhler 1998; Fent 2001). CYP1A에 관련된 측정 방법은 Table 2에서 확인할 수 있다.

노르웨이의 해양생물학자인 Dr. Anders Goksoyr가 제시한 어류의 CYP1A의 발현에 영향을 주는 요소로 성적 미성숙, 발육단계 등의 내인적 요인과 수온, 계절의 변화 등의 물리학적 또는 무생물적인 요인들을 제시하였다. 이러한 요소들은 CYP1A가 biomarker로써 사용이 될 경우 반드시 고려되어야 할 요소들이다.

어류가 서식하는 수중환경의 온도는 극지방(섭씨 -1.9도)이나 열대지방의 연못(섭씨 35~40도) 등과 같이 폭 넓은 범위이다. 대부분의 어류들은 급격한 온도변

**Table 2.** CYP 1A detection methods in fish

Detection level	Probe	Assay
CYP1A enzyme	Catalytic assay	EROD, AHH
CYP1A protein	Antibody	Western blotting, ELISA Immunohistochemistry
CYP1A mRNA	cDNA, oligonucleotide	Northern blotting, RT-PCR In situ hybridization

Abbreviations: EROD, 7-ethoxyresorfin O-deethylase; AHH, aryl hydrocarbon hydroxylase; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; RT-PCR, reverse transcriptase-polymerase chain reaction (from Goksoyr 1995).

화에 그 자신들이 노출되는 것을 피하기 위하여 주로 서식범위 내에서 살지만 자연재해 즉, 홍수나 태풍 등에 의해 불가항력적으로 급격한 온도 변화는 피할 수 없게 된다. 이러한 온도 변화에 대해 저온환경에 대한 보상으로 어류의 CYP1A는 증가할 뿐 아니라 (Anderson and Forlin 1992) 계절의 변화에 따라 CYP1A의 발현이 변화하는 결과도 보고되었다 (George *et al.* 1990; Larsen *et al.* 1992). 이외 성간의 차이로 암컷의 경우엔 산란기에 CYP1A의 변화가 심하므로 수컷을 이용하는 것이 권장되어진다. 포유류에서는 영양상태와 식이 (diet)에 관련하여 많은 연구가 되어왔지만, 어류에서의 식이상태와 이물 대사 (xenobiotic metabolism)에 관한 연구는 상대적으로 적은 것이 현실이다. 그럼에도 불구하고 실제적으로 필드에서 샘플링을 할 경우에 채집 지역의 식이상태가 결과에 영향을 미칠 수 있다. 서로 다른 어종 (魚種) 일 경우에도 CYP1A의 반응성에 차이가 있기 때문에 적합한 어종을 선택하는 것도 중요한 요소 중의 하나이며, 빛 (광주기), 압력, 염도 (삼투압)와 handling, crowding, 소음, 전리방사선 등의 스트레스성 요인들도 영향을 끼칠 수 있다 (Collier *et al.* 1992, 1993; Goksoyr *et al.* 1987). 이러한 경우 때문에 필드에서 채집한 샘플들로부터 얻은 CYP1A 연구결과에 상당한 영향을 줄 수 있다. 따라서 정확한 연구결과를 위해서는 채집지역에 관한 정확한 정보 즉, 채집지역의 물리, 이화학적 특성, 온도, 깊이, 염도 등을 확보하는 것이 매우 중요하다.

### Biomarker로서 CYP1A의 개발 및 응용

일반적으로 biomarker의 개발에서 가장 염두에 두어야 하는 것은 환경오염물질에 의한 생물체의 변화에 대해 적절한 해석이 가능한가의 여부이다. 즉, CYP1A나 AhR 유전자의 발현이 개체나 집단의 건강이나 생태시스템에 어떤 의미를 갖고 있는가를 설명할 수 있어야

하는 것이다. 생물체 내에서의 CYP1A의 유도는 이중적인 역할을 한다. 그 중 한 측면은 증가된 CYP1A 효소는 기질이 되는 환경오염물질을 분해, 대사시키거나 발암물질을 대사적으로 활성화시켜 발암과정에 관여하게 된다. 다른 측면은 내분비계, 정보전달계 그리고 면역계에 대한 영향이다 (Zelikoff *et al.* 2000). CYP1A의 유도에 의해 내분비계, 정보전달계, 면역계의 균형조정기능이 제 역할을 할 수 없다 (Nebert 1991). 위에서 서술한 것과 같이 CYP1A의 생체 내에서의 유도는 단순한 약물대사효소로서의 의미와 함께 biomarker로서의 역할을 통해 환경오염의 monitoring과 생체에 미치는 영향을 예측하는 중요한 의미를 갖고 있다.

Biomarker의 개발시 이종간의 비교 분석이 중요하다. 어떤 물질이 한 종에서는 A라는 유전자를 유도시킬 수 있고 다른 종에서는 B를 유도시킬 수 있다. 예컨대, TCDD가 쥐 (*Rattus rattus*)에서는 CYP1A를 유도하지만 deer mouse (*Peromyscus maniculatus*)에서는 CYP1A1과 CYP2B를 유도하기도 한다 (Nims *et al.* 1998; Dickerson *et al.* 1999). 이러한 이종간의 차이는 실험동물, 조류, 어류, 양서류사이에서 일어날 수 있다. 그래서 한 종으로부터 얻은 결과의 다른 종으로의 외삽 (extrapolation)은 각 종간의 생리학과 생화학적인 정보를 토대로 해야만 한다.

*In vitro* reporter gene assay를 이용한 방법도 내분비계 장애물질을 검출할 수 있는 좋은 방법이다. 앞서 서술한 것과 같이 다이옥신류의 화합물이 AhR과 결합하고 AhR은 핵 내의 ARNT 전사인자와 결합하여 heterodimer를 형성하여 CYP1A 유전자의 upstream에 존재하는 DRE에 작용하여 유전자 발현을 유도시킨다. 즉, 다이옥신의 독성의 강도에 따라 CYP1A 유전자 promoter에 있는 DRE에 의해 CYP1A의 발현이 유도된다. 이러한 원리와 luciferase의 특징을 이용하여 *in vitro* reporter gene을 만들어 다이옥신류의 물질을 검출한다 (Merk *et al.* 1996; Williams *et al.* 2000).

끝으로 새로 개발되는 biomarker는 다음과 같은 기본 방침을 고려하여 개발되어야 한다. 첫째로 환경오염물질과 특정 질병과의 관계를 지속적으로 monitoring해야 한다. 둘째로 개발한 biomarker의 평가 방법과 정확도를 개선하여 관련 질병의 예측에 사용될 수 있도록 해야 한다. 셋째로 biomarker가 환경오염으로 인한 질병과 유전적 질병을 예측할 수 있는 유용한 도구로 사용되기 위해서는 과학적인 기술의 축적 뿐만 아니라 국가적 차원의 폭 넓은 정책적 지원이 필요하다고 생각한다.

## 적 요

*CYP1A* 유전자는 cytochrome P450 약물대사효소에 속하며 다이옥신 등의 내분비계 장애물질에 의해 농도 의존적으로 유도되어 환경오염물질에 의해 유도되는 특성을 이용하여 환경오염물질에 대해 반응하는 생물체의 유전자 발현 변화 뿐만 아니라 이를 토대로 특정지역의 환경오염에 관한 정보를 얻을 수 있다. 본 논문에서는 수서환경오염과 관련하여 *CYP1A* 유전자의 유용성을 다각도로 논의하였다.

## 사 사

본 연구는 2002년도 한국학술진흥재단 중점연구소 지원 프로그램(KRF-2002-005-C00019)에 의해 수행되었습니다.

## 참 고 문 헌

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1994a. Toxicological profile for 4, 4'-DDT, 4, 4'-DDE, 4, 4'-DDD. TP-93/05. Atlanta. U.S. Department of Health and Human Services.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1994b. Toxicological profile for Pentachlorophenol. TP-93/05. Atlanta. U.S. Department of Health and Human Services.
- Albertini RJ. 1999. Biomarkers responses in human populations: towards a world wide map. *Mutat. Res.* 428: 217-226.
- Anderson T and TL Forlin. 1992. Regulation of the cytochrome P450 enzymes system in fish. *Aquat. Toxicol.* 24:1-20.
- Amanuma K, H Takeda, H Amanuma and Y Aoki. 2000. Transgenic zebrafish for detecting mutations caused by compounds in aquatic environments. *Nature Biotechnol.* 18:62-65.
- Ashok T and S Saxena. 1995. Biodegradation of polycyclic aromatic-hydrocarbons. *J. Sci. Ind. Res.* 54:443-451.
- Bendor S and OA Sadik. 1998. Direct electrochemical immunosensor for polychlorinated biphenyls. *Environ. Sci. Technol.* 32:788-797.
- Birnbaum LS. 1994. Evidence for the role of the Ah receptor in response to dioxin. pp.139-154. In *Receptor-Mediated biological processes: Implications for evaluating carcinogens*, Vol. 387, Progress in clinical and biological research (Spitzer HL, TJ Slaga, WF Greenlee and M McClain, Eds.). Wiley-Liss. New York.
- Buhler DR and JL Wang-Buhler. 1998. Rainbow trout cytochrome P450s: purification, molecular aspects, metabolic activity, induction and role in environmental monitoring. *Comp. Biochem. Physiol.* 121C:107-137.
- Campbell SJ, F Carlotti, PA Hall, AJ Clark and CR Wolf. 1996. Regulation of the *CYP1A1* promoter in transgenic mice: an exquisitely sensitive on-off system for cell specific gene regulation. *J. Cell Sci.* 109:2619-2625.
- Collier TK, SV Singh, YC Awasthi and U Varanasi. 1992. Hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in two species of benthic fish showing different prevalences of contaminant-associated liver lesions. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 113:319-324.
- Collier TK, JE Stein, A Goksoyr, MS Myers, JW Gooch, RJ Huggett and U Varanasi. 1993. Biomarkers of PAH exposure in oyster toadfish (*Opsanus tou*) from Elizabeth River, Virginia. *Environ. Sci.* 2:161-177.
- Coon MJ, ADN Vaz and LL Bestervelt. 1996. Cytochrome P450. 2. Peroxidative reactions of diversozymes. *FASEB J.* 10:428-434.
- Costa LG. 1998. Biochemical and molecular neurotoxicology: relevance to biomarker development, neurotoxicity testing risk assessment. *Toxicol. Lett.* 102/103:417-421.
- Dickerson RL, MJ Hooper and NW Gard. 1994. Toxicological foundations of ecological risk assessment: Biomarker development and interpretation based on laboratory and wildlife species. *Environ. Health Perspect.* 102:65-69.
- Dickerson RL, Cs McMurry and EE Smith. 1999. Modulation of endocrine pathways by 4, 4'-DDE in the deer mouse *Peromyscus maniculatus*. *Sci. Tot. Environ.* 233: 97-108.
- Fent K. 2001. Fish cell lines as versatile tools in ecotoxicology: assessment of cytotoxicity, cytochrome P450 1A induction potential and estrogenic activity of chemicals and environmental samples. *Toxicol. In Vitro* 15:477-488.
- George S, P Young, M Leaver and D Clarke. 1990. Activities of pollutant metabolising and detoxication systems in the liver of the plaice, *Pleurovetes platessa*: Sex and seasonal variations in non-induced fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 96C:185-192.
- Goksoyr A. 1995. Use of cytochrome P450 1A (*CYP1A*) in fish as a biomarker of aquatic pollution. *Arch. Toxicol. Suppl.* 17:80-95.
- Goksoyr A, T Andersson, T Hansson, J Klungsoyr, Y Zhang

- and L Forlin. 1987. Species characteristics of the hepatic xenobiotics and steroid biotransformation systems of two teleost fish, Atlantic cod (*Gadus morhua*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 89:347-360.
- Guengerich FP. 1990. Enzymatic oxidation of xenobiotic chemicals. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 25:97-153.
- Guengerich FP. 1992. Metabolic activation of carcinogens. *Pharmacol. Ther.* 54:17-61.
- Hahn ME. 1998. The aryl hydrocarbon receptor: A comparative perspective. *Comp. Biochem. Physiol.* 121C: 23-53.
- Hahn ME. 2002. Biomarkers and bioassays for detection dioxin-like compounds in the marine environment. *Sci. Tot. Environ.* 289:49-69.
- Ioannides C. 1990. Induction of cytochrome P-450 I and its influences in chemical carcinogenesis. *Biochem. Soc. Trans.* 18:32-34.
- Larsen HE, M Celander and A Goksoyr. 1992. The cytochrome P450 system of Atlantic salmon. II. Variations in hepatic catalytic activities and isozyme patterns during an annual reproductive cycle. *Fish Physiol. Biochem.* 10:291-301.
- Lewis DFV. 1997. Cytochrome P450, structure, function and mechanism. Taylor & Francis. London.
- Murk AJ, JL Elger, MS Denison, JP Giesy, C Van de Guchte and A Brouwer. 1996. Chemical-activated luciferase gene expression (CALUX): A novel *in vitro* bioassay for Ah receptor active compounds in sediments and pore water. *Fund. Appl. Toxicol.* 33:149-160.
- Navas JM and H Segner. 1998. Antiestrogenic activity of anthropogenic and natural chemicals. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 5:75-82.
- Navas JM and H Segner. 2000. Antiestrogenicity of  $\beta$ -naphthoflavone and PAHs in cultured rainbow trout hepatocytes: evidence for a role of the aryl hydrocarbon receptor. *Aquat. Toxicol.* 51:79-92.
- Neber DW, DR Nelson and R Feyereisen. 1989. Evolution of the cytochrome P450 genes. *Xenobiotica* 19:1149-1160.
- Nebert DW. 1991. Proposed role of drug-metabolizing enzymes: Regulation of steady state levels of the ligands that effect growth, homeostasis, differentiation and neuroendocrine functions. *Mol. Endocrinol.* 5:1203-1214.
- Nims RW, RA Lubet and SD Fox. 1998. Comparative pharmacodynamics of CYP2B induction by DDT, DDE and DDD in male rat liver and cultured rat hepatocytes. *J. Toxicol. Environ. Health* 53:455-477.
- Poland A, E Glover and AS Kende. 1976. Stereospecific, high-affinity binding of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by hepatic cytosol. *J. Biol. Chem.* 251:4936-4946.
- Pritchard JB. 1993. Aquatic toxicology-past, present and prospects. *Environ. Health Perspect.* 100:249-257.
- Safe S. 1994. Dietary and environmental estrogens and anti-estrogens and their possible role in human disease. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 1:29-33.
- Scott ML. 1977. Effects of PCBs, DDT and mercury compounds in chickens and Japanese quail. *Fed. Proc.* 36: 1888-1893.
- Stegeman JJ and ME Hahn. 1994. Biochemistry and molecular biology of monooxygenase: Current perspectives on forms, functions and regulation of cytochrome P450 in aquatic species. pp.87-204. In *Aquatic toxicology, molecular, biochemical and cellular perspectives* (Malins DM and GK Ostrander, eds). Lewis Publishers. Boca Raton.
- Swanson HI and CA Bradfield. 1993. The AH-receptor: Genetics, structure and function. *Pharmacogenetics* 3: 213-230.
- Szurdoki F, L Jaeger, A Harris, H Kido, I Wengatz, M Goodrow, A Szekacs, M Wortberg, J Zheng, D Stoutamire, J Sanborn, S Gilman, A Jones, S Gee, P Choudary and B Hammock. 1996. Rapid assay for environmental and biological monitoring. *J. Environ. Sci. Health B* 31:451-458.
- Williams TD, JS Lee, DL Sheader and JK Chipman. 2000. The cytochrome P450 1A (CYP1A) from European flounder (*Platichthys flesus*), analysis of regulatory regions and development of a dual luciferase reporter gene system. *Mar. Environ. Res.* 50:1-6.
- Zelikoff JT, A Raymond, E Carlson, Y Li, JR Beaman and M Anderson. 2000. Biomarkers of immunotoxicity in fish: from the lab to the ocean. *Toxicol. Lett.* 112-113: 325-331.

(Received 14 January 2002, accepted 20 February 2003)