

저농도의 Microcystin-LR를 단기간 처리한 흰쥐에서 투여방법에 따른 독성 지표의 변화

함영국*, 김성완*

서울특별시 상수도연구소 수질연구부, *강원대학교 자연과학대학 생명과학부

Changes of Toxicological Factors in Rats Short-Term Treated with Two Feeding Methods at Low Level of Microcystin-LR

Young-Kook Ham* and Sung-Wan Kim*

Division of Water Quality Research, Seoul Waterworks Research Institute,
Seoul, 143-820, Korea

*Division of Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Korea

ABSTRACT

To investigate the effects of low dosed microcystin-LR (MCLR) on the initial stage of subacute hepatotoxicity in vivo, male Sprague-Dawley rats after weanling were divided in four groups. The orally treated group (OG) was administered orally by 1 µg/kg B.W. at an interval of three days. The free group (FG) has taken the drinking water including 1 µg/L freely and the control group (CG) was only treated with 0.9% saline solution. All groups were treated for a period of 3 weeks. There was a significant correlation in body growth rate between OG and FG and especially, a deterioration of the growth of spleen was observed in the FG after 5 days. The protein levels were also decreased in OG and FG after 9 days. Level of total fat was increased to the 9th day but again decreased up to the initial level. High hemolysis of the isolated erythrocytes occurred only in OG. Activities of γ-GT of OG and FG were higher twice-fold than CG, but the values of OG were already higher at the first treatment day. No significant change in aspartate aminotransferase (AST) activity was shown in all groups, but the activity of alanine aminotransferase (ALT) was slightly increased at the beginning state. There were much similarities in the results of OG and FG, except the growth inhibition of spleen in FG. It may be concluded that long-term effects of the low doses of microcystins in animals including human being can lead to serious health problems, especially to liver and spleen.

Key words : microcystin-LR, body growth, γ-GT, hemolysis, AST, ALT

서론

약 100년 전부터 시아노박테리아(또는 남조류)

※ To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-2-2049-1054, E-mail: hampark@water.seoul.go.kr

가 대발생한 호수, 강 및 늪지 물을 섭취한 후에 죽은 많은 동물들의 치사원인이 시아노박테리아 기원의 간독소에 기인 한다고 밝혀져 있으며(Dillenberg *et al.*, 1960; Falconer, 1989), 해마다 많은 국가들에서 조류 대발생이 보고되고 있다. 현재까지 밝혀진 시아노박테리아의 간독소인 microcys-

tins (MCs)에는 최소한 50개 이상의 동족체들이 있으며 (Carmichael, 1994), 그들의 화학적 구조는 치환이 가능한 두개의 아미노산들과 공통의 방향족 아미노산 유도체인 ADDA (3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4,6-dienoic acid)로 구성되어 있다 (Botes *et al.*, 1985). Microcystins 중에서 가장 강력한 독성을 갖는 독소인 microcystin-LR (MCLR)은 약 1000 daltons의 분자량을 갖는 cyclic heptapeptide이다. 자연수중에서 MCLR의 반감기는 보통 1주일 정도 (Codd & Bell, 1996)이나 환경조건에 따라서는 최대 21일까지 존재하다가 (Jones & Orr, 1994) 미생물 및 빛에 의해 분해되는 매우 안정된 화합물로 알려져 있다 (Kenefick *et al.*, 1993; Tsuji *et al.*, 1994).

시아노박테리아의 MCs 관련 연구에 의하면, 이 물질을 투여한 동물실험 및 세포배양에서 간독성 유발, 간암 및 직장암 발생 (Falconer, 1991; Nishiwaki-Matsushima *et al.*, 1992; Zhou *et al.*, 2000), 단백질 인산화 효소의 활성저해 (Runnegar *et al.*, 1993)와 세포사의 유발 (Mankiewicz *et al.*, 2001; Ding *et al.*, 2003) 등과 같은 매우 강한 독성 효과를 나타내었다. 인간에 있어서 MCs의 노출은 주로 구강경로를 통해 일어나며 식수, 물놀이, 조류가공식품 및 사워 등에 의한다고 알려져 있다 (Falconer, *et al.*, 1994; Hrudey *et al.*, 1994; Lahti *et al.*, 2001; Hitzfeld *et al.*, 2002; Frank, 2002). 그러나, MCs는 매우 수용성이 높은 비휘발성 물질로 공기를 통한 흡입이나 피부접촉으로는 흡착되지 않는다 (Lambert *et al.*, 1994). MCs의 생체내 잔류는 정맥주사 후에 간에서는 6일동안 감지되었으며 (Eriksson *et al.*, 1990), 최초 12시간 내에는 75%, 6일 후에는 대부분이 배설되었다 (Brooks *et al.*, 1987; Robinson *et al.*, 1991). 그러나, 간세포의 세포질내로 들어온 MCLR은 효소 단백질들 (protein phosphatase 2A 및 1)과 공유결합을 하므로써 약 14일 이상 잔류한다고 보고되었다 (Honkanen *et al.*, 1990; Robinson *et al.*, 1991).

시아노박테리아 독소에 의한 사고 발생의 사례들이 다수의 국가들에서 보고되어 있다. 브라질에서는 MCLR에 의한 수돗물 오염으로 병원에 입원한 많은 신장투석 환자들이 사망하였고 (Jochimsen *et al.*, 1998; Azevedo *et al.*, 2002), 중국에서는 시아노박테리아 대발생 지역의 주민들이 MCs에 오염

된 식수를 장기간 음용함으로써 높은 간암발생을 초래하였다 (Ueno *et al.*, 1996; Ling, 2000). 그 외에 일본, 유럽 및 북미 등에서도 상수원 (Watanabe and Oishi, 1983; Repavich *et al.*, 1990; Kotak *et al.*, 1993), 건강보조식품 (Gilroy *et al.*, 2000), 조개 등의 어패류 (Falconer, 1992; Magalhaes *et al.*, 2001) 등이 시아노박테리아의 MCs에 의해 오염되었음을 보고하였다. 그러므로, WHO (1998)에서는 식수에 대한 잠정적인 MCLR의 수질기준을 1 µg/L로 설정하였고, Rao 등 (2002)은 0.1 µg/L로서 수질기준의 강화를 주장하였다. 우리나라에서도 한강 및 4대강 유역, 그리고 일부 호수에서 시아노박테리아의 대발생과 함께 그 대사물질인 MCLR의 미량 검출이 보고되었다 (Oh *et al.*, 2001). 따라서, 인간들이 MCs에 의한 노출 및 피해를 겪을 기회는 더욱 증가될 것으로 우려된다.

지금까지 인체 및 동물에 대한 MCLR의 독성은 다수의 연구들에 의해 밝혀졌다 (Zilberg, 1966; Falconer, *et al.*, 1988; Fawell *et al.*, 1994; Solter, *et al.*, 1998; Guzman, *et al.*, 2002; Shi, *et al.* 2002). 그러나, 일반적으로 일상생활에서 인류에 대한 MCLR의 노출은 실험적으로 행해지는 다량의 투여량보다는 미량 수준에서 장기간 섭취로 인한 독성 발생이 더 현실적이라고 할 수 있다. 또한, 독소의 노출경로, 방법 및 함량에 따라 인체에 미치는 독성효과 및 독성 효과가 다르게 나타날 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 저농도의 MCLR을 흰쥐에 구강 투여 또는 식수에 첨가하여 섭취시킨 후에 유발되는 독성의 초기단계에서 몇가지 독성 지표의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 이유후 1주일된 120~130 g의 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 국립독성연구소로부터 분양 받아 1주간 동안 사육환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물들은 (주)삼양사의 고형 사료와 물 (탈이온수)을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 사육환경은 22~25°C에서 12시간씩 명암주기를 조절하여 관리하였다. 또한, 모든 실험동물은 일정한 시기마다 체중을 측정하여 성장을 기록하였다.

2. 실험재료

Microcystin-LR은 Calbiochem-Novabiochem사 (San Diego, CA, 미국)로부터 구입하였다. Alanine amino transferase (ALT) 및 amino aspartate transferase (AST)의 활성도 측정용 kit는 Sigma사 (St. Louis MO, 미국), gamma-glutamyl transferase, total cholesterol, triacylglycerol 및 sorbital dehydrogenase의 측정용 kit는 Wako사 제품 (St. Louis MO, 일본)을 사용하였다. 그 밖의 시약들은 특급용 시약을 사용하였다.

3. 동물사육

실험동물은 MCLR의 섭취방법 (주기적/연속적)에 따른 독성효과를 확인하고자 대조군(CG), 구강투여군(OG) 및 자유섭취군(FG)의 3군으로 나누어 사육하였다. 실험동물에 처리한 MCLR 양은 Runnegar 등(1991), Fawell 등(1994) 및 Wickstrom 등(1996)의 문헌을 참고하여 저농도(LD₅₀의 1/5~1/2 농도)로 조제하여 투여하였다. OG군은 MCLR을 식염수(0.9% NaCl)에 녹여서 1 µg/kg B.W.를 4일간격으로 일정 시간에 구강 투여하였다. FG군은 식수에 MCLR을 최종농도 1 µg/L가 되도록 용해하여 자유롭게 마시도록 하였으며, 섭취량은 매일 일정 시간마다 측정하여 보충하였다. CG군은 MCLR 대신 식염수(0.9% NaCl)를 OG군의 처리방법으로 구강 투여하였다. 모든 실험동물은 OG군을 기준으로 하여 날자별로 MCLR를 투여한 24시간 후에 실험군당 3~5마리를 에테르로 마취시키고, 복부를 절제하여 복대정맥으로부터 혈액을 취하였다. 간장, 비장 및 신장 등의 장기는 생리식염수로 세척한 다음 여과지로 습기를 제거하고 무게를 측정한다. 즉시 -80°C의 냉동고에 보관하였다.

4. 실험방법

혈액으로 유출된 간세포의 손상 지표로는 혈청 내 gamma-GT, ALT, AST의 효소활성도로 하였고 추가로 TC와 TG의 총량 및 SDH의 활성도를 측정하였다. 혈청 단백질량의 측정은 Bradford 등의 방법(1976)을 사용하였다. 적혈구의 용혈실험은 Benzidine 시약을 사용하여 분광광도계로 515 nm에서 분석하였다(한국생화학회, 1997).

5. 통계처리

모든 실험결과는 평균±표준오차(mean±S.E.)로 표시하였다. 대조군에 대한 유의성 여부는 Student의 t-test를 이용하여 검정하였다. P<0.05(*), P<0.01(**) 및 p<0.005(***) 수준에서 유의성을 보이는 결과를 별표로 표시하였다.

결과 및 고찰

1. 실험동물 성장

실험동물의 성장은 MCLR를 처리한 군들을 대조군과 비교하였을 때 전반적으로 약 1주일까지는 실험군별로 큰 차이가 없었다. 그러나, MCLR를 처리한 9일 이후부터는 실험군별로 차이를 나타내기 시작하여 3주 후에는 대조군에 비해 FG군과 OG군은 각각 17.2% 및 21.0%의 성장 지연을 보였다(Table 1). 따라서, 실험동물 군별 성장속도는 CG > FG > OG 순이었으며, 실험동물의 성장에 MCLR이 영향을 미치는 것으로 판단되었다. Fawell 등(1994)은 MCLR를 처리한 실험동물의 성장은 대조군에 비하여 약 7%가 둔화된다고 보고하였으며, 본 연구에서도 실험군의 체중은 약 20%가 감소함으로써 유사한 결과를 보여 주었다.

2. 장기별 성장

실험동물의 주요 장기에 미치는 MCLR의 영향을 조사하기 위하여 시간에 따른 장기별 성장을

Table 1. Changes of body-weight during the experimental period (Unit : gram)

Day	CG	FG	OG
1	125.2±0.66	124.7±0.59	124.9±0.13
3	140.3±1.89	139.2±0.71	140.1±4.95
5	162.9±12.78	160.7±7.60	165.5±11.31
9	203.1±10.05	199.8±10.70	201.2±10.91
13	244.6±12.62	238.0±11.57	236.7±5.05
23	423.9±107.8	351.1±19.23	334.8±18.58

OG was treated orally with 1 µg MCLR/kg B.W. in 0.9% saline at intervals of 4 days and FG was treated as drinking-water including 1 µg MCLR/L. Body-weight was measured every two days at the same time. Each value represents mean±S.E. of three or five animals

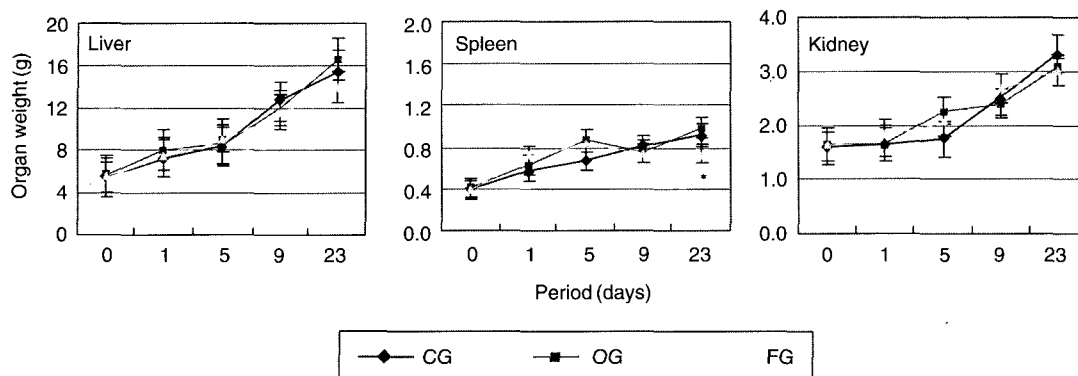


Fig. 1. Effects of MCLR on liver, spleen, and kidney weights in male SD rats. OG was treated orally with 1 μ g MCLR/kg B.W. in 0.9% saline at intervals of 4 days and FG was treated as drinking-water including 1 μ g MCLR/L. One day after the toxin treatment, animals of each group were used for assays. Each bar represents mean \pm S.E. of three or five animals. The asterisk indicates the value different from the CG at $P < 0.05$ (*).

비교하였다(Fig. 1). 각 실험군에 있어서 간장 및 신장의 성장은 유의성있는 차이를 나타내지 않았지만, MCLR을 처리한 실험군들은 CG군에 비해 동물들의 비장 및 신장의 성장은 서서히 둔화되는 것으로 나타났다. 특히, 실험군 중에서 FG군의 장기들의 성장은 3주 후에 크게 지체하는 경향을 보여 주었다. 실험동물들 MCLR로 처리한 1주일 전후로 OG군 및 FG군의 장기별 성장은 전반적으로 CG군에 비해 약간 높았으나, 간장을 제외한 장기들의 성장은 점차 둔화되는 것으로 조사되었다. Fig. 1에서 주목할 점은 MCLR에 노출시킨 실험동물 군들의 장기중에서 비장 무게는 초기 5일경에 CG에 비해 높게 증가하였다가 OG군은 CG군과 유사한 성장추세를 나타내었으나, FG군에서는 성장이 멈추는 양상을 보여 주었다.

본 연구결과는 Hooser 등(1990)과 Milutinovic 등(2002)이 연구한 MCLR를 처리한 동물은 간장의 중량이 증가한다는 결과와 매우 일치하였다. 기존에 보고된 MCLR에 의한 신장 손상에 관한 명확한 결과를 확인하지 못했으나, 특이적으로 FG군에서 비장의 성장저해가 크다는 것을 발견하였다. 실제로 FG군의 비장 성장이 정지되었는지를 확인하기 위하여 실험동물의 성장에 따른 장기별 흰쥐의 체중대비의 비율(장기중량/동물체중)을 비교하였다. 흰쥐의 체중대비 간장 및 신장의 감소율은 실험군들 사이에서 큰 차이를 보이지 않았지만, 비장에서는 다른 군들에 비해 FG군이 큰 감소량을

나타냈다. 즉, CG군, OG군 및 FG군의 비장의 감소율은 각각 33 \rightarrow 25%, 40 \rightarrow 30% 및 45 \rightarrow 20%로서 FG군에서 가장 큰 감소율을 보여줌으로서 FG군의 비장은 MCLR의 영향으로 성장이 저해되는 것으로 사료되었다. 그러나, 본 연구결과는 단기간에 걸쳐 수행되었기 때문에 차후의 연구에서 보다 정교한 실험도구를 사용하여 MCLR과 비장 및 신장의 관련성 여부에 대한 추가적인 확인이 필요하겠다.

3. 혈액내 protein 및 TG의 농도, Hemolysis

혈액내 혈청의 protein 농도는 1주경까지는 큰 차이를 보이지 않았으나, 그 후에는 실험군들인 OG군과 FG군 모두에서 급격히 감소하는 결과를 보여 주었다(Table 2). 또한 protein 농도의 감소량은 OG군에 비하여 FG군에서 더욱 크게 나타났다. 적혈구의 용혈 검사에서는 다른 군들에 비하여 OG군의 용혈 정도가 더 심했으나, FG군은 오히려 CG군보다도 낮은 값을 보였다. 간조직 내의 TG 함량은 CG군에 비하여 OG군과 FG군 모두가 낮은 값을 나타내다가 독소 처리후 약 1주일경부터 점차 증가하여 9일부터는 급격히 증가하는 형태를 보였다(Fig. 2). 실험군간 TG의 함량은 OG군이 FG군에 비하여 더 큰 변화를 보였다.

4. 혈액내 간지표 효소의 활성도

MCLR처리에 의한 흰쥐의 간장 손상을 확인하

Table 2. Effects of MCLR on serum protein level and hemolysis in male SD rats for experimental period (Unit : mg/mL)

Day	0	1	5	9	23
Protein Conc					
CG	83.6±0.86	83.5±0.11	81.8±0.40	81.7±0.23	79.2±3.19
OG	83.6±0.86	82.8±0.15	83.4±1.07	84.2±0.11	74.3±1.56
FG	83.6±0.86	83.5±0.10	81.8±0.72	85.1±0.09	71.0±1.97
Hemolysis					
CG	0.17±0.02	0.14±0.04	0.09±0.00	0.13±0.00	0.13±0.02
OG	0.17±0.02	0.34±0.03	0.14±0.00	0.20±0.01	0.17±0.01
FG	0.17±0.02	0.07±0.01	0.06±0.01	0.06±0.02	0.06±0.03

OG was treated orally with 1 µg MCLR/kg B.W. in 0.9% saline at intervals of 4 days and FG was treated as drinking-water including 1 µg MCLR/L. One day after the toxin treatment, the blood was collected through liver vein. Each value represents mean ± S.E. of three or five animals.

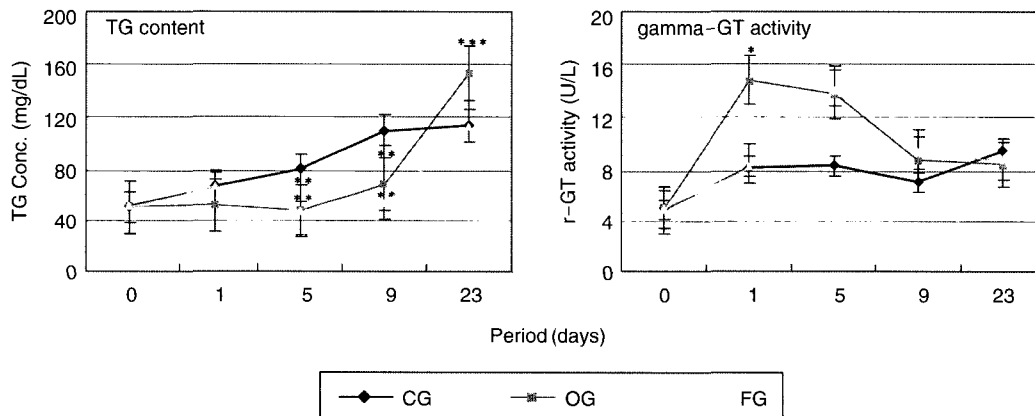


Fig. 2. Effects on serum TG contents and plasma gamma-GT Activity in male SD rats according to time. OG was treated orally with 1 µg MCLR/kg B.W. in 0.9% saline at intervals of 4 days and FG was treated as drinking-water including 1 µg MCLR/L. One day after the toxin treatment, the blood was collected through liver vein. Each bar represents mean activity S.E. of three or five animals. The asterisk indicates the value significantly different from the CG at P < 0.05 (*), P < 0.01 (**), and P < 0.005 (***)

기 위하여 혈액내의 ALT와 AST의 효소 활성을 측정하였다(Table 3). 모든 군들 사이에서 ALT 활성의 차이는 크지 않았으나, OG군만은 약 9일경에 다른 군들에 비해 약간 상승된 수준을 보였다. 또한 AST 활성도 모든 군들간에 유의성있는 차이를 보이지 않았다. 그러나, 혈장내 gamma-GT 활성은 OG군과 FG군에서 독소처리 후 초기에는 급격히 증가하다가 9일경부터는 감소하여 CG군과 유사한 수준을 유지하였다. 특히, OG군은 다른 군에 비하여 MCLR를 처리한 초기에 약 2배 이상의 높은 활성을 보였다. 혈청 중의 SDH 활성은 CG군에 비

하여 OG군이 5일경에 높은 수준을 나타내었다가 감소한 반면에 FG군은 9일경부터 3주 후까지 꾸준한 활성 증가를 보였다(자료생략). 그 외의 실험 결과들은 실험군들 사이에서 특이적인 차이를 확인할 수 없었다.

Shi 등(2002)의 흰쥐 연구, Gupta 등(2003)의 생쥐 연구 및 Orr 등(2003)의 소 연구(2003)에 의하면 MCLR를 처리한 동물실험에서 혈청내 AST 및 gamma-GT 등의 효소농도는 증가하였으나, 혈청의 ALT 농도는 동물종별로 다르게 나타났다. Solter (2000)와 Shi 등(2002)의 연구에서 혈청의 ALT 활

Table 3. Effects on serum and plasma ALT and AST activities in male SD rats

Day	0	0-1*	1	5	9	23
ALT Activity						
Serum						
CG	31.2±14.72	48.4±1.75	26.4±2.60	20.6±4.33	24.5±3.00	27.5±0.84
OG		44.7±2.63	16.1±1.78	18.8±1.21	34.4±4.02	22.1±1.67
FG		40.1±2.97	19.2±0.61	22.5±0.96	18.1±0.71	19.5±1.10
Plasma						
CG	50.8±8.94	48.4±2.21	23.1±1.64	23.2±3.02	21.1±1.38	17.6±2.10
OG		56.7±13.46	13.6±1.58	24.3±0.55	30.4±4.85	16.2±0.26
FG		49.7±7.55	14.2±0.76	23.7±0.81	16.5±2.68	15.6±2.08
AST Activity						
Serum						
CG	93.6±3.15	108.2±11.60	104.1±9.58	81.4±8.91	87.0±9.82	103.7±22.88
OG		96.2±16.89	93.7±13.46	79.0±1.86	84.3±9.48	97.9±16.21
FG		83.4±10.37	71.6±4.77	69.5±6.19	84.3±3.42	82.0±10.40
Plasma						
CG	73.7±2.82	88.0±6.92	111.1±15.50	95.9±4.45	112.8±48.93	115.9±17.35
OG		136.7±15.55	77.5±14.68	84.1±8.31	89.6±10.80	106.6±25.25
FG		85.8±0.76	88.5±31.33	78.8±7.76	102.2±7.39	92.3±5.53

OG was treated orally with 1 µg MCLR/kg B.W. in 0.9% saline at intervals of 4 days and FG was treated as drinking-water including 1 µg MCLR/L. One day after the toxin treatment, the blood was collected through liver vein. Each bar represents mean activity S.E. of three or five animals. 0-1 presents an 1 hour after MCLR-treatment to animals.

성은 감소하거나 또는 변화가 없었고, 그 외의 문헌에서는 ALT 활성이 증가하는 것으로 보고되었다. 그러므로, 동물에 미치는 MCLR의 독성영향은 실험동물의 개체 특성, 독소의 투여량 및 처리 방법에 따라 독성효과가 주로 발현되는 간장뿐만 아니라 다른 장기에 미치는 영향이 다양할 것으로 추정되었다.

동물의 독소처리에 따른 간세포 지표효소들의 활성이 증가하는 시기는 γ -GT의 경우에는 MCLR를 처리한 직후, SDH (OG군만)는 1~5일경, 그리고 그 외의 효소들은 약 7일경에 나타났다. 기존의 문헌에 따르면, 생체에 대한 MCs의 효과는 독소 노출 후에 짧게는 30분에서 4시간, 길게는 몇 년이 소요되는 것으로 나타났다 (Zilberg, 1966; Zegura *et al.*, 2003). 즉, 동물의 복막 경로를 통한 LD₅₀ 이상의 MCLR 농도에 노출될 경우 단시간에 독성을 유발시키지만, 일반적인 경구 경로를 통한 아급성일 경우에는 만성적인 독성효과를 보여 주었다. 따라서, 저농도의 MCLR을 처리한 동물에서 나타나는 초기의 독성효과에 대해 명확한 결과를 확인하지 못했을 지라도 장기적으로는 생체독성 발현에 영향을 줄 수 있는 것으로 사료되었다.

결론

현재 많은 국가의 강과 호수들에서 빈번하게 대발생되는 시아노박테리아(또는 남조류) 및 그 대사산물로 인한 수질오염은 수생태계 뿐만 아니라 동물과 인간에게도 직·간접적인 경로를 통하여 건강에 심각한 위협을 가하고 있다 (Carmichael *et al.*, 2001; Rao *et al.*, 2002). 일상생활에서 MCLR에 의한 인간의 노출 및 피해는 대개 경구를 통한 저농도 수준에서 장기적인 음식물의 섭취 등과 같은 형태로 이루어지고, 그 기회는 점차적으로 확대될 것으로 예측되고 있다.

본 연구에서는 Sprague-Dawley계 흰쥐(수컷)에 시아노박테리아의 주요 독소인 MCLR을 1 µg/kg B.W로 4일마다 반복하여 구강 투여한 군(OG)과 식수내에 1 µg/L의 농도가 되도록 조정하여 자유롭게 섭취한 군(FG군)으로 나누어 약 3주 이상을 사육하면서 독성효과를 연구하였다. 그 연구결과는 다음과 같이 요약할 수 있다. 첫째, MCLR을 처리한 실험동물군은 대조군에 비하여 성장 속도가 17~21% 이상 둔화되었다. 둘째, 실험쥐의 주요 장기

들에 대한 MCLR의 독성은 특히, FG군에서는 비장의 성장저해에 가장 큰 영향을 주는 것으로 나타났다. 셋째, 혈액내 단백질 농도는 독소에 노출된 초기에는 특이적인 변화가 없었으나 3주 후에는 모든 실험군에서 감소하였다. 넷째, 실험군들의 혈액내 간세포에서 유래된 효소들의 활성은 대조군에 비하여 MCLR을 처리한 동물군 모두에서, 그리고 γ -GT, ALT 및 SDH 등의 효소활성은 OG군 > FG군 > CG군의 순으로 높았다. 마지막으로 활성 증가의 시기는 γ -GT 효소인 경우 MCLR를 처리한 직후부터, SDH 활성(OG군만)은 1~5일경부터, 그리고 그 외의 효소 활성은 약 9일경부터 증가하였다. 또한 MCLR의 섭취 방법에 따른 독성의 차이는 FG군의 비장 독성이외는 구강으로 투여한 군과 식수로 음용한 군간에 별다른 차이를 보이지 않았다. 상기의 결과로 볼 때, 생체는 독소를 비연속적으로 다량 섭취하는 것보다 미량일지라도 연속적으로 섭취하는 경우 생체내 축적된 독소에 의한 영향이 더 클 것으로 추정되었다. 따라서, 본 연구결과는 동물 및 인간이 일상생활을 통하여 시아노박테리아의 대발생으로 인해 오염된 식수나 어패류 및 조류 가공식품 등을 장기적으로 섭취할 경우에는 낮은 MCLR 함량 및 섭취방법의 차이에도 불구하고 생체 내에서 독성효과를 나타낼 수 있음을 보여주었다. 또한 본 연구 조건에서 수행한 저농도의 독소에 의해 유발된 독성효과의 결과는 조류 독성의 초기 진단에 이용될 수 있겠으며, 아울러 아급성 단기독성에 대한 신속 정확한 진단법의 개발 필요성도 제시하였다.

참 고 문 헌

- 한국생화학회. 실험생화학, 3판, 탐구당, 567 pp., 1997.
- Azevedo SM, Carmichael WW, Jochimsen EM, Rinehart KL, Lau S, Shaw GR and Eaglesham GK. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil, *Toxicol.* 2002; 181-182: 441-446.
- Botes DP, Wessels PL, Kruger H, Runnegar MTC, Santikarn S, Smith RJ, Barna JCJ and Williams DH. Structural studies on cyanoginosins -LR, -YR, -YA, and -YM, peptide toxins from *Microcystis aeruginosa*, *J. Chem. Soc., Perkin transactions* 1985; I: 2747-2748.
- Bradford MA. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 1976; 72: 248-254.
- Brooks WP and Codd GA. Distribution of *Microcystis aeruginosa* peptide toxin and interactions with hepatic microsomes in mice, *Pharmacol. toxicol.* 1987; 60: 187-191.
- Carmichael WW. The toxins of cyanobacteria, *Scientific American* 1994; 270(1): 78-86.
- Carmichael WW, Azevedo SM, An JS, Molica RJ, Jochimsen EM, Lau S, Rinehart KL, Shaw GR and Eaglesham GK. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins, *Environ. Health Perspect* 2001; 109: 7663-7668.
- Codd GA and Bell SG. The occurrence and fate of blue-green algal toxins in freshwaters. 1996, London, Her Majesty's Stationery Office (National Rivers Authority R and D Report 29).
- Dillenberg HO and Dehnel MK. Toxic water bloom in Saskatchewan, *Canadian Medical Association journal* 1960; 83: 1151-1154.
- Ding WX and Nam_Ong C. Role of oxidative stress and mitochondrial changes in cyanobacteria-induced apoptosis and hepatotoxicity, *FEMS Microbiol. Lett.* 2003; 220(1): 1-7.
- Eriksson JE, Gronberg L, Nygard S, Slotte JP and Meriluoto JA. Hepatocellular uptake of 3H-dihydromicrocystin-LR, a cyclic peptide toxin, *Biochimica. Biophysica. Acta.* 1990; 1025: 60-66.
- Falconer IR. Effects on human health of some toxic cyanobacteria (blue-green algae) in reservoirs, lakes and rivers, *Toxicity assessment* 1989; 4: 175-184.
- Falconer IR. Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria, *Environ. toxicol. water quality* 1991; 6: 177-184.
- Falconer IR, Burch MD, Steffensen DA, Choice M and Coverdale OR. Toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment, *Environ. toxicol. water quality* 1994; 9: 131-139.
- Falconer IR, Choice A and Hosia W. Toxicity of edible mussels growing naturally in an estuary during a water bloom of the blue green algae *Nodularia spumigena*, *Environ. toxicol. water quality* 1992; 7: 119-123.
- Falconer IR, Smith JV, Jackson AR, Jones A and Runnegar MT. Oral toxicity of a bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* administered to mice over periods up to 1 year, *J. toxicol. environ. health* 1988; 24: 291-305.
- Fawell JK *et al.* Blue-green algae and their toxins- analysis,

- toxicity, treatment and environmental control, *Water supply* 1993; 11: 109–121.
- Feitz AJ, Lukondeh T, Moffitt MC, Burns BP, Naidoo D, Della_Vedova J, Gooden JM and Neilan BA. Absence of detectable levels of the cyanobacterial toxin (microcystin-LR) carry-over into milk, *Toxicon*. 2002; 40(8): 1173–1180.
- Frank CA. Microcystin-producing cyanobacteria in recreational waters in southwestern Germany, *Environ. Toxicol.* 2002; 17(4): 361–366.
- Gilroy DJ, Kauffman KW, Hall RA, Huang X and Chu FS. Assessing potential health risks from microcystin toxins in blue-green algae dietary supplements, *Environ. Health Perspect.* 2000; 108(5): 435–439.
- Gupta N, Pant SC, Vijayaraghavan R and Rao PV. Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice, *Toxicology* 2003; 199(2–3): 285–296.
- Guzman RE and Solter PF. Characterization of sublethal microcystin-LR exposure in mice, *Vet. Pathol.* 2002; 39(1): 17–26.
- Hitzfeld BC, Hoger SJ and Dietrich DR. Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment, *Environ. Health Perspect.* 2002; 108(Suppl 1): 113–122.
- Honkanen RE, Zwiller J, Moore RE, Daily SL, Khatra BS, Dukelow M and Boynton AL. Characterization of microcystin-LR, a potent inhibitor of type 1 and type 2a protein phosphatases, *J. biol. chem.* 1990; 265: 19401–19404.
- Hooser SB, Beasley VR, Basgall EJ, Carmichael WW and Haschek WM. Microcystin-LR-induced ultrastructural changes in rats, *Veterinary pathology* 1990; 27: 9–15.
- Hrudey SE, Lambert TW and Kenefick SL. Health risk assessment of microcystins in drinking water supplies. In: *Toxic cyanobacteria—a global perspective*, 1994; pp. 7–12. Adelaide, Australian Centre for Water Quality Research.
- Jochimsen EM, Carmichael WW, An JS, Cardo DM, Cookson ST, Holmes CE, Antunes MB, de Melo Filho DA, Lyra TM, Barreto VS, Azevedo SM and Jarvis WR. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil, *N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 13873–13878.
- Kenefick SL, Hrudey SE, Peterson HG and Prepas EE. Toxin release from *Microcystis aeruginosa* after chemical treatment, *Water sci. and technol.* 1993; 27: 433–440.
- Kotak BG, Kenefick SL, Hrudey SE, Prepas EE, Motkosky N and Peterson HG. Occurrence and toxicological evaluation of cyanobacterial toxins in Alberta lakes and farm dugouts, *Water research* 1993; 27: 495–506.
- Lahti K, Rapala J, Kivimaki AL, Kukkonen J, Niemela M and Sivonen K. Occurrence of microcystins in raw water sources and treated drinking water of Finnish waterworks, *Water Sci. Technol.* 2001; 43(12): 225–228.
- Lambert TW, Holmes CFB and Hrudey SE. Microcystin class of toxins: health effects and safety of drinking water supplies, *Environ review* 1994; 2: 167–186.
- Magalhaes VF, Soares RM and Azevedo SM. Microcystin contamination in fish from the Jacarepagua Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk, *Toxicon*. 2001; 39(7): 1077–1085.
- Mankiewicz J, Tarczyska M, Fladmark KE, Doskeland SO, Walter Z and Zalewski M. Apoptotic effect of cyanobacterial extract on rat hepatocytes and human lymphocytes, *Environ. Toxicol.* 2001; 16(3): 225–233.
- Milutinovic A, Sedmak B, Horvat_Znidarsic I and Suput D. Renal injuries induced by chronic intoxication with microcystins, *Cell Mol. Biol. Lett.* 2002; 7(1): 139–41.
- Nishiwaki-Matsushima R, Ohta T, Nishiwaki S, Suganuma M, Kohyama K, Ishikawa T, Carmichael WW and Fujiki H. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR, *J. cancer resea clinoncol.* 1992; 118: 420–424.
- Oh HM, Lee SJ, Kim JH, Kim HS and Yoon BD. Seasonal variation and indirect monitoring of microcystin concentrations in Daechung reservoir, Korea, *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67(4): 1484–1489.
- Orr PT, Jones GJ, Hunter RA and Berger K. Exposure of beef cattle to sub-clinical doses of *Microcystis aeruginosa*: toxin bioaccumulation, physiological effects and human health risk assessment, *Toxicon*. 2003; 41(5): 613–620.
- Rao PV, Gupta N, Bhaskar AS and Jayaraj R. Toxins and bioactive compounds from cyanobacteria and their implications on human health, *J. Environ. Biol.* 2002; 23(3): 215–224.
- Repavich WM, Sonzogni WC, Standridge JH, Wedepohl RE and Meisner LF. Cyanobacteria (blue-green algae) in Wisconsin waters: acute and chronic toxicity, *Water research* 1990; 24: 225–231.
- Robinson NA, Matson CF and Pace JG. Association of microcystin-LR and its biotransformation product with a hepatic-cytosolic protein, *J. biochem. toxicol.* 1991; 6: 171–180.
- Robinson NA, Pace TG, Matson CF, Miura GA and Lawrence EB. Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice, *J. pharmacol.*

- experi theria 1991; 256: 176-182.
- Runnegar MT, Gerdes RG and Falconer IR. The uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by isolated rat hepatocytes, *Toxicon*. 1991; 29: 43-51.
- Runnegar MT, Kong SM and Berndt N. Protein phosphatase inhibition and in vivo hepatotoxicity of microcystins, *Ame physiol*. 1993; 265: G224-G230.
- Shi W, Zhu H, Yan X and Zhou Z. Sub-acute hepatotoxicity of low doses of microcystins, *Huan Jing Ke Xue* 2002; 23(5): 47-51.
- Solter P, Liu Z and Guzman R. Decreased hepatic ALT synthesis is an outcome of subchronic microcystin-LR toxicity, *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 2000; 164: 2216-2220.
- Solter PF, Wollenberg GK, Huang X, Chu FS and Runnegar MT. Prolonged sublethal exposure to the protein phosphatase inhibitor microcystin-LR results in multiple dose-dependent hepatotoxic effects, *Toxicol. Sci*. 1998; 44(1): 87-96.
- Tsuji K, Watanuki T, Kondo F, Watanabe MF, Suzuki S, Nakazawa H, Suzuki M, Uchida H and Harada KI. Stability of microcystins from cyanobacteria: effect of light on decomposition and isomerization, *Environ. sci. technol*. 1994; 28: 173-177.
- Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, Hasegawa A, Watanabe MF, Park HD, Chen GC, Chen G and Yu SZ. Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay, *Carcinogenesis*, 1996; 17(6): 1317-1321.
- Watanabe MF and Oishi S. A highly toxic strain of blue green alga *Microcystis aeruginosa* isolated from Lake Suwa, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries* 1983; 49: 1759.
- WHO. Guidelines for Drinking-water Quality, 2nd, Geneva, 1998.
- Wickstrom M, Haschek W, Henningsen G, Miller LA, Wyman J and Beasley V. Sequential ultrastructural and biochemical changes induced by microcystin-LR in isolated perfused rat livers, *Nat. Toxins* 1996; 4(5): 195-205.
- Zegura B, Sedmak B and Filipic M. Microcystin-LR induces oxidative DNA damage in human hepatoma cell line HepG2, *J. Toxicon*. 2003; 41(1): 41-8.
- Zhou L, Yu D and Yu H. Drinking water types, microcystins and colorectal cancer, *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2000; 34(4): 224-6.
- Zilberg B. Gastroenteritis in Salisbury European children—a five-year study, *Central African journal of medicine* 1966; 12: 164-168.