

## Xenoestrogens이 문절망둑(*Acanthogobius flavimanus*)의 난소 성숙 스테로이드 생성과정에 미치는 영향

박명희 · 백혜자 · 이영돈\* · 김형배\*\*

부경대학교 해양자원생물학과 · \*제주대학교 해양과환경연구소 ·

\*\*강원도립대학교 해양생물자원개발과

### 서론

에스트로젠성 내분비계장애물질들은 하수처리장, 폐지공장, 농장의 폐수 등을 통해 수계생태계로 들어간다. 이들 물질들은 estrogenic 잠재력과 어류에서 estrogen 합성에 영향을 미치고(Jobling ad Sumpster, 1993), 에스트로젠적인 활성의 중요한 요인이 되어 (Desbrow et al., 1998; Ternes et al., 1999; Baronti et al., 2000) 어류의 난발생과 생식기능에 영향을 미치게 된다.

에스트로젠성 내분비계장애물질들로는 diethylstilbestrol(DES), nonylphenol (NP), polychlorobiphenyl(PCBs), bisphenol A 등이 알려져 있다. Nonylphenol은 1년간 노출시킨 무지개송어의 생존율과 성비에는 영향이 없었으나, 수컷의 간에서 vitellogenin과 vitellogenin mRNA, zona radiata protein (ZRP) expression 유도효과를 나타냈다(Ackermann et al., 2002). DES는 13일 동안 노출한 sheephead minnow 수컷에서 vitellogenin 유도효과가 있었다 (Folmar et al., 2002). 또 BPA 1820  $\mu\text{g/L}$ 의 농도에 노출된 medaka는 체중과 체장이 유의하게 감소했고, 모두 암컷으로 되었다.

본 연구는 어류 난모세포의 *in vitro* 배양을 통해 에스트로젠적인 물질들이 난소의 steroidogenesis에 직접적으로 미치는 영향을 알아보려고 한다.

### 재료 및 방법

실험어 : 실험어는 1~2월에 부산 다대포에서 채집한 전장 16.6~21.4 cm, 체중 26.7~52.2g을 대상으로 하였다.

난모세포 분리 : 실험어들은 2-phenoxy-ethanol로 마취 후 clean bench로 옮겨졌다. 난소조직을 절취하여 TBSS (trout balanced salt solution, Jalabert and Fostier, 1984)로 세척한 뒤 얼음 위에서 난모세포들을 하나씩 분리하였다. 핵이 거의 중앙에 위치 또는 중앙에서 이동 중인 난모세포들을 사용하였다. 난소로부터 난모세포를 분리한 후 방사선으로 표지된 스테로이드 전구물질인  $^3\text{H}$ -17  $\alpha$  hydroxyprogesterone와

DES, NP, BPA, polychlorinated biphenyl 104 (PCB104)을 각각 100ng ml<sup>-1</sup>을 첨가하여 12°C에서 48시간 배양하였다.

스테로이드 호르몬 분석 : 80% 에탄올로 난모세포와 배양액을 함께 균질화하여 원심분리한 뒤 에탄올 상등액을 건조시킨 후 500 $\mu$ l 물에 용해시켜 다시 dichloromethane으로 2번 추출하여 스테로이드만을 얻었다. 스테로이드 추출물은 표준스테로이드와 동시에 실리카겔을 입힌 얇은막 지지체에 점적된 후 밀폐된 혼합용매(benzene : acetone = 80:20과 benzene : ethylacetate = 80:20) 속에서 전개되었다. 일정시간 후 얇은막을 건조시킨 뒤 자외선 (254 nm)으로 증기로 대사물질의 반점을 확인하였다. 얇은 막에 나타난 물질들은 방사선사진법 (autoradiography)에 의해 재확인하고 radioactivity (photostimulated luminescence, PSL)를 비교하였다.

## 결과 및 요약

문절망둑의 난소 조직을 대상으로 전구물질 3H-17 $\alpha$ hydroxyprogesterone (3H-17 $\alpha$ OHP)을 첨가하여 48시간 배양한 뒤 생성된 성 스테로이드 대사물질을 TLC를 거쳐 방사선사진법으로 확인하였다.

방사선사진법 (autoradiography)에 의한 확인 결과 TLC 상의 반점은 17 $\alpha$ -hydroxy,20 $\alpha$ -dihydroprogesterone (17 $\alpha$ 20 $\alpha$ OHP)과 17 $\alpha$ -hydroxy,20 $\beta$ -dihydroprogesterone (17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP), estradiol-17 $\beta$  (E2)의 표준 물질과 일치하였고 미지의 대사물질들도 나타났다. 또 방사선사진법의 radioactivity 비교 결과, 17 $\alpha$ 20 $\alpha$ OHP의 radioactivity는 대조구에 비해 DES와 PCB 처리구에서 높게 나타났고, BPA 처리구에서는 낮았고 NP 처리구에서는 나타나지 않았다. 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP의 radioactivity는 대조구에 비해 DES 처리구에서만 높게 나타났고, NP, PCB, BPA 처리구는 모두 대조구에 비해 낮았다. E2 radioactivity는 대조구에 비해 모두 낮았다. 전체적인 radioactivity는 DES 처리구를 제외한 모든 처리구에서 대조구에 비해 낮았다.

teststerone과 androstenedione, estrone의 대사이무 확인과 대사물질의 정확한 동정이 요구된다.

## 참고문헌

- Ackermann, G.E., J. Schwaiger, R.D. Negele, K. Fent. 2002. Effects of long-term nonylphenol exposure on gonadal development and biomarkers of estrogenicity in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 60, 203 ~ 221.
- Folmar, L.C., M.J. Hemmer, N.D. Denslow, K. Kroll, J. Chen, A. Cheek, H. Richman, H. Meredith, E.G. Grau. 2002. A comparison of the estrogenic potencies of estradiol, ethynylestradiol, diethylstilbestrol, nonylphenol and methoxychlor in vivo and in vitro. *Aquatic Toxicology*, 60, 101~110.