

석사학위논문

과불화옥탄술폰산의 저용량
장기노출에 따른 초파리의
행동 변화

제주대학교 교육대학원

영양교육전공

양 지 연

2023년 8월



과불화옥탄술폰산의 저용량 장기노출에 따른 초파리의 행동 변화

지도교수 홍 기 배

양 지 연

이 논문을 교육학 석사학위 논문으로 제출함

2023년 6월

양지연의 교육학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 강 인 혜 (서명)
위 원 홍 기 배 (서명)
위 원 박 성 수 (서명)

제주대학교 교육대학원

2023년 6월



Effect of long-term low-dose
PFOS exposure on Behavioral changes
in *Drosophila melanogaster*

Ji-Yeon Yang

(Supervised by Professor Ki-Bae Hong)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the
degree of Master of Education

June. 2023.

This thesis has been examined and approved.

Thesis director, In-hae Kang, Prof. of Food Science and Nutrition

Ki-Bae Hong, Prof. of Food Science and Nutrition

Sung-Soo Park, Prof. of Food Science and Nutrition

June. 2023.

DEPARTMENT OF NUTRITION EDUCATION
GRADUATE SCHOOL OF EDUCATION
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

List of Table & Figure	iii
List of Abbreviations	iv
Abstract	vi
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	11
1. 재 료	11
1) Chemicals	11
2) <i>Drosophila melanogaster</i> Stocks	11
3) Experimental Group	12
2. 방 법	13
1) Lifespan assay	13
2) Prepare sample for <i>Drosophila melanogaster</i>	14
3) Glucose Content Analysis	14
4) Protein Content Analysis	14
5) Triglyceride (TG) Content Analysis	15
6) Analysis of Sleep Behavioral	15
7) Video Analyses of Locomotor Activity	16
3. 통계 분석	17

III. 결과 및 고찰	18
1. Effect of PFOS on <i>Drosophila melanogaster</i> Lifespan	18
2. Effect of PFOS on Body Composition in <i>Drosophila melanogaster</i>	22
3. Effects of PFOS on <i>Drosophila melanogaster</i> locomotor activity	26
4. Effect of PFOS on sleep parameters in <i>Drosophila melanogaster</i>	28
5. Effect of PFOS on behavioral changes during daytime in <i>Drosophila melanogaster</i>	31
IV. 요약 및 결론	34
V. 참고문헌	36
<국문초록>	43

List of Table & Figure

– List of Table

Table 1. The chemical structures of perfluoroalkyl substances3

Table 2. Toxicity of perfluorooctanesulfonic acid in animals.....6

– List of Figure

Figure A. *Drosophila melanogaster* as a model organism in food and nutrition.... 9

Figure B. Low dose exposure to perfluorooctanesulfonic acid in a *Drosophila melanogaster* model..... 12

Figure C. Simplified schematic of a *Drosophila melanogaster* lifespan assay..... 13

Figure 1. Effects of PFOS on *Drosophila melanogaster* Lifespan 20

Figure 2. Comparison the lifespan of normal *Drosophila melanogaster* with each group born in PFOS 21

Figure 3. Effect of PFOS on body composition in *Drosophila melanogaster*..... 25

Figure 4. Effects of PFOS on locomotor activity in *Drosophila melanogaster*..... 27

Figure 5. Effects of PFOS on sleep parameters in *Drosophila melanogaster* 30

Figure 6. The Activity during the 5-minute observation period is analyzed with the EthoVison-XT system..... 33

List of Abbreviations

ADHD: Attention deficit hyperactivity disorder

ATP: Adenosine triphosphate

Apo B: apolipoprotein B

AFP: Alpha fetoprotein

BMI: Body mass index

CEA: Carcinoembryonic antigen

DAM: *Drosophila* activity monitoring

DNS: 3,5-Dinitrosalicylic acid

FEV1: Forced expiratory volume per sec

FVC: Forced vital capacity

GDM: Gestational diabetes mellitus

GFAP: Glial fibrillary acidic protein

GD: Gestational day

HSI: Hepatosomatic index

HDL: High-density lipoprotein

hsCRP: High sensitivity C reactive protein

IL-6&15: Interleukin 6&15

IL-1 β : Interleukin 1 beta

LDL: Low-density lipoprotein

LPL: Lipoprotein lipase

LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol

PFAS: Perfluoroalkyl substances

PFOA: Perfluorooctanoic acid

PFOS: Perfluorooctanesulfonic acid

PND: Postnatal day

POPs: Persistent organic pollutants

PPAR: Peroxisome proliferator-activated receptor

SAA: Serum amyloid A

S-100 β : S100 calcium binding protein β

TG: Triglyceride

TNF- α : Tumor necrosis factor alpha

TPOAb: Thyroid peroxidase antibody

TSH: Thyroid stimulating hormone

VLDL: Very low-density lipoprotein

Abstract

Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS), one of the environmentally ubiquitous and persistent polyfluorinated compounds (PFCs), is an anthropogenic pollutant. Moreover, epidemiological investigations have demonstrated significant correlations between exposures to PFCs, including PFOS, and neurological disorders, such as reduced spatial learning and memory ability and attention deficit/hyperactivity disorder. While the exact mechanisms how PFOS and other PFCs elicit the neurological disorders are not known to date, several groups have suggested that humans, including newborn babies fed with breastmilk, are frequently exposed to PFCs through dietary intake.

The aim of this study is to investigate changes in lifespan, body composition, sleep, and behavior through the adult fruit fly model of low-dose long-term exposure to PFOS during the larval period. The quantification and analysis of lifespan and body condition were conducted to investigate the dose-dependent effect of PFOS exposure. Behavioral analysis was applied to investigate changes in total activity, sleep episodes, and total duration of subjective nighttime sleep following dose-dependent exposure to PFOS. In addition, Video tracking analysis was conducted to evaluate behavioral characteristics such as distance moved, velocity and mobility of individual fruit flies exposed to PFOS.

All PFOS-exposed groups showed a significant decrease in life span compared to the normal group ($p < 0.01$, $p < 0.001$, respectively). In body composition analysis, PFOS (2 nM and 20 nM) exposure significantly decreased protein content ($p < 0.05$) and significantly increased triglyceride content ($p < 0.05$) compared to the normal group. In sleep pattern analysis, exposure to 2 nM and 20 nM of PFOS significantly increased subjective nighttime movement ($p < 0.01$) and decreased total sleeping time ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). As a result of video tracking analysis, the 20 nM PFOS-exposed group showed a significant increase in distance moved ($p < 0.01$), velocity ($p < 0.01$) and mobility ($p < 0.001$) compared

to the normal control group.

In summary, PFOS exposure in the larval stage of *Drosophila melanogaster* induces a shorter lifespan, changes in body composition, as well as changes in sleep duration and behavioral factors. This study tried to provide behavioral, biochemical, and biological evidence for understanding neurotoxic effects of PFOS exposure in larval stage on circadian rhythms and behavioral factors.

I. 서론

잔류성 유기오염 물질(Persistent organic pollutants, POPs)란 환경에서 분해하기 어렵고, 지속성이 강하며 생태계 먹이사슬을 통해 생체축적으로 인간에게 독성 유발하는 화합물을 뜻한다 (El-Shahawi et al., 2010). 또한 식물, 동물, 미생물 등 다양한 유기체에 축적되어 생태계를 교란시킬 수 있으며, 조류, 어류, 포유류 및 파충류에서는 지방 조직에 축적되고 느리게 분해되는 것으로 보고되었다. 다양한 POPs 는 토양 및 수질의 오염원으로 생식 장애, 성적 발달 변화, 성장 장애 등을 유발하는 내분비계 교란물질로 알려져 있다 (Guo et al., 2019). 환경에 미치는 POPs 의 보고된 위험성은 생산, 사용 및 방출을 통제하기 위한 국제 협약 및 규정에 따라 유엔 환경 계획(United Nations Environment Program)에서 2001 년 POPs 를 규제하는 스톡홀름 협약을 채택하였으나, 현재까지도 환경에 미치는 영향뿐만 아니라 섭취 시 유발되는 질병에 대한 관심도가 높아지고 있는 추세이다 (Guo et al., 2019).

POPs 중 과불화화합물(Perfluoroalkyl substances, PFAS)은 화학 구조적으로 탄화수소의 기본골격 중 수소가 불소로 치환된 형태의 물질을 의미하며, 발수성, 발유성, 내열성 및 화학적 안정성과 같은 고유한 특성으로 인해 다양한 산업 및 소비 제품으로 사용되었다(Table 1). 과불화옥탄술폰산(perfluorooctanesulfonic acid, PFOS) 및 과불화옥탄산(perfluorooctanoic acid, PFOA)와 같은 PFAS 는 수성막포소화약제(aqueous film forming foam extinguishing agent)로 소방용 제품에 사용되었으며, 이외에도 의류, 전자 및 전기 산업, 조리기구, 얼룩방지 코팅,

식품포장 및 개인 물품 등에 소재로써 이용되었다 (Starnes et al., 2022). 하지만 PFAS 의 사용은 사람의 체내에서 간 손상, 면역체계 기능 장애, 호르몬 불균형, 생식 장애 및 특정 암 유발의 증가뿐만 아니라 식수 오염 및 취급 근로자의 노출 등과 같이 지속성, 잠재적인 건강 위험 및 환경 문제로 인해 PFOS 와 PFOA 와 같은 특정 PFAS 의 생산 및 사용은 많은 국가에서 단계적으로 중단되거나 제한되었다 (Lucas et al., 2023).

PFOS 는 PFAS 의 종류에서 가장 널리 사용된 화합물로써 (Starnes et al., 2022), 1949 년에 3M Company (Minnesota Mining and Manufacturing Company, MN, USA)에서 생산되었으며, 화재 진압을 위한 소방용 제품, 의류의 방수 및 얼룩 방지, 산업에서의 금속 도금 및 표면 처리 공정 등에 활용되었다. 하지만 PFOS 의 지속성, 생체 축적 및 잠재적인 위험성에 대한 연구가 1990 년대 말부터 2000 년대 초에 보고되며, 이로 인해 2000 년 PFOS 관련 제품의 생산 및 사용을 단계적으로 중단하기로 결정되었고, 2009 년 POPs 에 관한 스톡홀름 협약에 등재되어 규제되어지고 있다 (Jian et al., 2018).

PFOS 는 규제에도 불구하고 환경에서의 지속성과 구조적 안정성으로 인해 쉽게 분해되지 않는 특성을 가지고 있다. 이러한 특성으로 인하여 토양, 해양, 생태계 유기체에서 지속되어지고 해류의 이동성 및 순환을 통하여 전 세계적으로 운반되어진다 (Zhao et al., 2012). 많은 연구에서 북극과 남극 해양 생물에서 PFOS 와 질병의 연관성을 확인하였으며 이는 생산하지 않는 지역에서 발견으로 이동성에 대한 근거를 뒷받침한다 (Gebbink et al., 2016). PFOS 이동성은 먹이사슬에 의하여 생물 농축이 발생하며 3 차 소비자 또는 인간에게서 보다 높은 함량의 수준으로 확인된다 (Lilienthal et al., 2017).

Table 1. The chemical structures of perfluoroalkyl substances

Compound	Chemical structure
Basic structure	$C_nF_{2n+1}R$
Perfluorocarboxylic acids (PFCAs)	$C_nF_{2n+1}COOH$
Perfluoroalkane sulfonic acids (PFSAs)	$C_nF_{2n+1}SO_3H$
Perfluorooctane sulfonic acid (PFOS)	$F_3C-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-SO_3H$
Perfluorooctane carboxylic acid (PFOA)	$F_3C-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-COOH$
Perfluohexane sulfonic acid (PFHxS)	$F_3C-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-SO_3H$
Perfluorononanoic acid (PFNA)	$F_3C-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-COOH$
Perfluorodecanoic acid (PFDA)	$F_3C-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-COOH$
Perfluoroundecanoic acid (PFUnA)	$F_3C-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-COOH$
Perfluorododecanoic acid (PFDoA)	$F_3C-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-COOH$

Adapted from Manhai Long et al., Environ Sci Pollut Res, 2013

PFOS 는 식수로부터 인체에 노출될 수 있으며, 화학 시설 근처 수원에
경우 평생 권장량보다 190 배 높은 농도가 미국 환경보호청(United States
Environmental Protection Agency)에 의해 측정되었다 (Hu et al., 2016).

인체 건강영향에 따르면 PFOS 는 발암성 (Vieira et al., 2013), 간독성 (Costello et al.,
2022), 내분비 장애 (Di Nisio et al., 2020), 면역체계 장애 (Grandjean et al., 2012), 신경 독성
(Skogheim et al., 2021), 심혈관 영향 (Lin et al., 2013) 등의 다양한 독성이 유발되어지는 것으로
보고되었으며 최근에는 태아기의 PFOS 노출로 인한 독성 결과도 주목하고 있는
시점이다 (Rappazzo et al., 2017).

인체 내에서 PFOS 는 혈액 순환을 통해 간으로 운반 및 축적되어진다 (Wang
et al., 2022). 또한 지속적으로 축적된 PFOS 에 의해 지질 대사 및 염증반응 관련
유전자의 발현 및 효소의 함량 변화로 인해 간 손상이 유발되었음이 보고되었다
(Zeng et al., 2019). PFOS 는 호르몬 항상성에 영향을 미칠 수 있으며 임신성 당뇨병 (Wang
et al., 2018), 갑상선 호르몬 불균형, 생식력 및 임신 과 연관성을 나타낼 수 있다 (Lum et
al., 2017). 남성의 경우 생존한 정자 비율 감소, 테스토스테론 감소와 관련이 있으며
여성의 경우 다낭성 난소 증후군, 자궁내막증, 및 불임요인과 관련이 있다
보고되었다 (Fenton et al., 2021). 임신부의 경우 PFOS 가 혈청에서 발견되었을 때 인슐린
및 총 콜레스테롤 함량과의 상관관계가 입증되기도 하였다 (Gardener et al., 2021).

PFOS 아동기 노출은 백신 반응과 같은 면역 조절 체계에 영향을 줄 수
있으며 연구에서 아동기 항체형성 감소, 면역과 관련된 질병 발현 연관성을
나타내었다 (Timmermann et al., 2017). 모체 혈청에서 PFOS 가 검출되었을 때, 디프테리아
항체 농도가 감소하고 파상풍의 발병 확률이 증가됨이 보고되었다. 또한
과잉행동장애와 같은 신경행동에도 영향을 줄 수 있으며 (Skogheim et al., 2021),
연구에서는 모체 혈장에서 PFOS 검출 시, 학습기억장애, 발달지연 등이 발견되었고

이는 신경 행동 장애의 기반이 되어진다 (Yao et al., 2023). 인간 체내에서 PFOS 반감기 연장에 미치는 영향은 신장 세노관 재흡수 작용에 기인되며, 최근 연구에서 PFOS 노출로 인해 신장 사구체 여과가 감소할 가능성이 있다고 발견하였으며 이는 신장 질환과 연관됨을 알 수 있다 (Blake et al., 2018). 이와 관련된 임상적인 결과를 Table 2. 로 나타내었다.

Table 2. Toxicity of perfluorooctanesulfonic acid in animals

	Model	Dose	Effects	Reference
Liver	<i>Zebrafish</i>	500 µg/L, 10 days	HSI ↑, liver size ↑, malignancies of liver	Zhu et al. (2021)
		0.5 µM, 150 days	Fat index of fish ↑, lipid level in liver ↑, TG level in serum ↑, HDL ↓, ATP content ↓, level of hepatic lipoprotein lipase ↓	Cheng et al. (2016)
		0.08 mg/L, 21 days	Body weight & length ↑, IL-6&15, TNF-α, IL-1β ↑, histological structural disorders of liver; Interfering the transcription of genes involved in immunoregulation	Guo et al. (2019)
	Mice	10 mg/kg/day, 21 days	Weight of liver & TG contents ↑, mRNA and protein levels of fatty acid translocase ↑, mitochondrial β-oxidation ↓, accumulation of fatty acids & lipids in the liver ↑, mRNA expression levels of fatty acid translocase ↑, VLDL & TG export ↓, VLDL/LDL level in serum, mRNA expression level of ApoB in liver ↓	Wan et al. (2012)
	Human	13.3 ng/mL	AFP ↑, CEA ↑	Cao et al. (2022)
Endocrine disruption	<i>Zebrafish</i>	32 µM, 15 days	Gene expression of <i>pparaa</i> & <i>pparg</i> (PPAR) ↓, pancreatic islet areas ↑ lipid droplet numbers and concentrations ↑	Sant et al. (2021)
		0.5 µM, 42days	Estradiol & testosterone serum ↑, gonadal gene expression ↑, gonadal development ↓	Chen et al. (2016)
	Mice	3 mg/kg, GD3-PND21	F1: Gene expression levels of LPL & fatty acid translocase ↑ level of fasting serum glucose ↑	Wan et al. (2014)
	Human	Median 8.03 ng/mL	TSH ↑, subclinical hypothyroidism ↑	Berg et al. (2015)
		4.8 ng/mL	TPOAb ↑, TSH ↑	Webster et al. (2014)
		0.02 ng/mL	GDM ↑, glucose level ↑	Yu et al. (2021)

Immune function	Rat	10 mg/kg, 28 each days	SAA protein & hsCRP ↑, autolysis ↑, conglutination of duodenum & jejunum, small intestine villi ↓, macrophage and neutrophil in jejunum ↑, TNF-α & IL-6 expression ↑	Liang et al. (2021)
		2 mg/kg, 21 days	Induction of apoptosis in the offspring heart, mitochondrial-mediated apoptosis-related gene expression ↑	Zeng et al. (2015)
		2 mg/kg, GD 2-21 days	GFAP&S-100β ↑, astrocyte activity, IL-1β&TNF-α ↑, mRNA levels of inflammatory transcription factors ↑	Zeng et al. (2011)
	Human	27.3 ng/mL, 5 years	Humoral immune response to childhood immunization ↓	Grandjean et al. (2015)
		5.6 ng/mL, 3 years	Response to pediatric vaccines ↓	Granum et al. (2013)
		20 ng/mL, 10 years	Risk of lower respiratory tract infections ↑	Kvalem et al. (2020)
6.4 ng/mL		FEV1, FVC, PEF and FEV1/FVC values ↓	Qin et al. (2017)	
Neuro system	<i>Caenorhabditis elegans</i>	20 μM, 48 h	Head swish & body flexure ↓, chemotaxis learning ↑	Chen et al. (2014)
		1 μM, 48 h	Head swish & body flexure ↓, behavior defects in offspring	Chowdhury et al. (2022)
Cardiovascular system	Human	36.1 ng/mL	Total cholesterol ↑	Vuong et al. (2021)
		22.7 ng/mL	Total cholesterol, LDL-C ↑	Frisbee et al. (2010)

Abbreviations: HSI: Hepatosomatic index, TG: Triglyceride, HDL: High-density lipoprotein, ATP: Adenosine Triphosphate, IL-6&15: Interleukin 6&15, TNF-α: Tumor necrosis factor-alpha, IL-1β: Interleukin 1 beta, VLDL: Very low-density lipoprotein, LDL: Low-density lipoprotein, ApoB: Apolipoprotein B, AFP: Alpha fetoprotein, CEA: Carcinoembryonic antigen, PPAR: Peroxisome proliferator-activated receptor, LPL: Lipoprotein lipase, TSH: Thyroid stimulating hormone, TPOAb: Thyroid peroxidase antibody, GDM: Gestational diabetes mellitus, LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol, SAA: Serum amyloid A, hsCRP: High sensitivity C reactive protein, GFAP: Glial fibrillary acidic protein, S-100β: S100 calcium binding protein β, GD: Gestational day, PND: Postnatal day, FEV1: Forced expiratory volume per sec, FVC: Forced vital capacity, PEF: Peak expiratory flow.

현재까지 동물 모델을 이용한 임상학적 연구에서는 PFOS의 고용량 투여 및 노출 시간이 짧다는 한계점이 있다. 하지만 환경에서는 저용량에서 장기간 동안의 노출이 이루어지고 있는 현실이다 (Starnes et al., 2022). 따라서 본 연구는 무척추 동물인 *Drosophila melanogaster* 모델을 활용하여 PFOS의 저용량 장기노출에 따른 행동의 변화를 보고하고자 하였다.

Drosophila melanogaster(초파리)는 무척추 동물로 파리목 초파리과의 곤충으로 (Staats et al., 2018), 인간의 질병관련 유전자 중 약 75% 이상의 상동성을 보유하며 (Chaouch and Lasko, 2021), 동물 및 인간의 에너지 대사와 관련된 뇌, 심장, 간, 지방체, 신장, 위장관 및 혈액과 유사한 기관을 가지고 있다 (Kim et al., 2021). 초파리는 매우 빠른 수명주기를 소유하고 있으며, Embryo(배아) 모델은 패턴 형성, 세포 운명 결정, 조직 형성, 신경발달 등의 근본적인 발달 연구에 자주 사용된다. Larva(애벌레) 모델은 생리적 과정, 채집과 같은 간단한 행동 연구에 사용되며, Pupa(번데기)의 경우 발달 과정의 기초가 되는 분자 및 유전적 매커니즘에 대한 연구에서 인간 생물학에서도 중요한 정보를 제공하고 있다 (Pandey and Nichols, 2011).

Adult(성체) 모델은 매우 정교하고 복잡한 유기체로 뇌의 경우, 100,000 개 이상 뉴런이 일주기 리듬, 수면, 학습 및 기억, 구애, 수유, 공격성, 몸단장 및 비행법을 포함한 복잡한 행동을 매개하는 신중한 회로와 신경망을 형성하며 (Pandey and Nichols, 2011) 신경 퇴행, 알츠하이머, 파킨슨병, 수면, 발작, 인지, 정신병, 정서질환에 대한 모델로 사용되어진다 (Mackay and Anholt, 2006). 또한 초파리의 특징을 통하여 대사증후군, 비만, 성장, 발달, 당뇨병, 및 심혈관 질환인 병태생리학적 연구 모델로 사용되어진다 (Graham and Pick, 2017; Musselman et al., 2011).

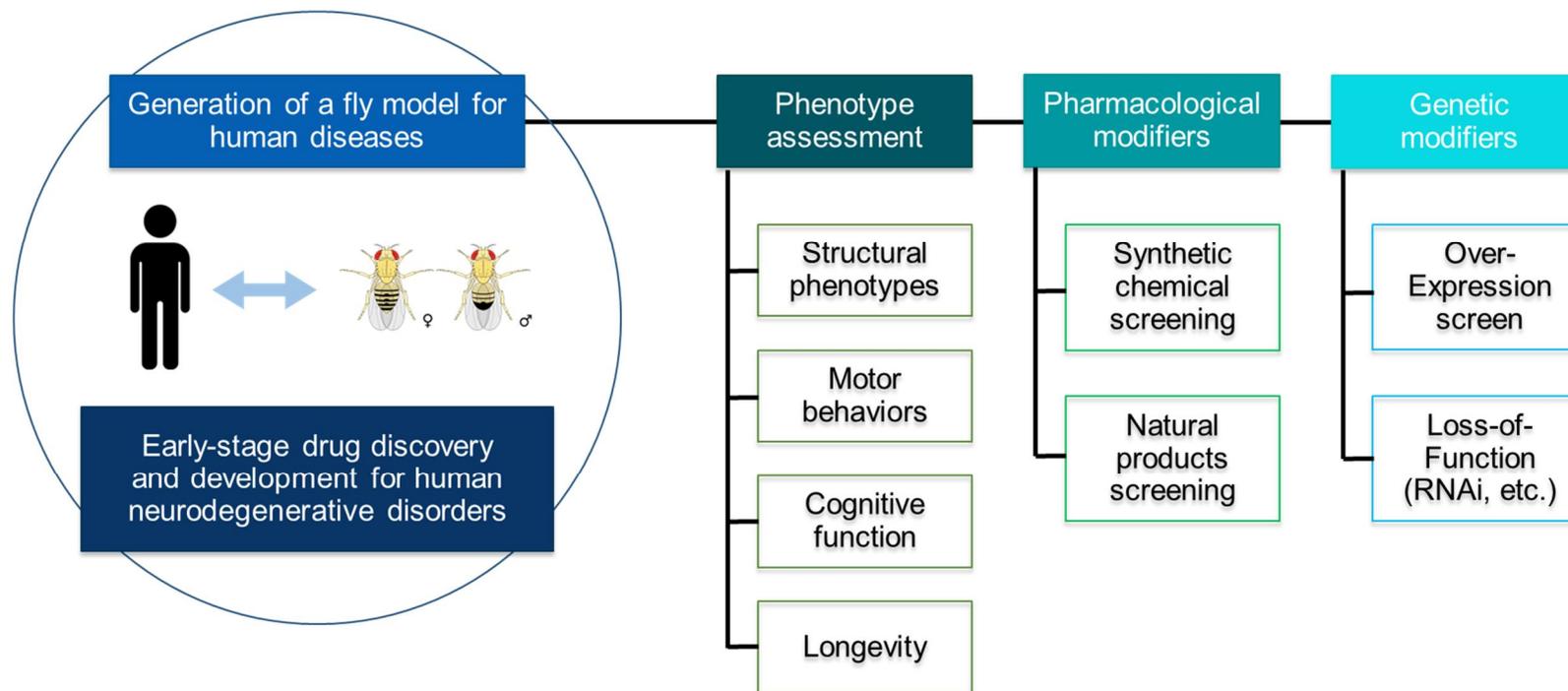


Figure A. *Drosophila melanogaster* as a model organism in food and nutrition.

환경에서 인간과 동물에 미치는 환경오염원의 영향은 만성적이며 낮은 용량에 대한 노출로 유도된다. 그러나 현재까지 동물모델에서 PFOS 저용량 장기노출 관련 연구는 한계가 있으며, 아동기에 노출에 의한 행동학적 변화에 대해서는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 초파리의 유충기 기간동안 PFOS 의 저용량 장기노출이 수명, 행동 및 수면의 변화에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

1) Chemicals

PFOS 는 Heptadecafluorooctanesulfonic acid solution (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 구입하여 사용하였다. 초파리 배지의 성분으로 sucrose (CJ 제일제당, Seoul, Korea), dry-yeast (Saf-instant, France), cornmeal (Hansol tech, Seoul, Korea), agar (Hansol tech), propionic acid (Daejung, Seoul, Korea), *p*-hydroxybenzoic acid methyl ester solution (Hansol tech)는 구입하여 사용하였다. Triton X-100 (Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, USA.), 3,5-dinitrosalicylic acid (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), NaOH (Daejung), Na-K tartarate (Daejung), Phenol (Sigma Aldrich), Na metabisulfite (Sigma Aldrich), BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA), Triglyceride Quantification Kit (Sigma Aldrich) 를 구입하여 사용하였다.

2) *Drosophila melanogaster* Stocks

Bloomington *Drosophila* Stock Center (Bloomington, IN, USA)의 wild-type *Drosophila melanogaster* Canton-S를 제공받아 실험에 사용하였다. 배양기 (HB302L, Hanback CO. LTD., Buchunsi, Korea)의 온도는 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도는 60-70%로 유지하였다. 초파리의 일주기리듬을 위하여 명암주기 12:12시간으로 설정하였다. 4-5일

된 수컷 초파리를 사용하였으며, cornmeal-agar 표준 배지(sucrose, cornmeal, dry-yeast, agar, propionic acid, and *p*-hydroxybenzoic acid methyl ester solution)에서 배양하였다.

3) Experimental Group

초파리는 Cornmeal-agar 표준 배지에 0.2 nM, 2 nM 및 20 nM의 PFOS가 함유된 배지에서 태어난 지 3일된 성체 초파리로 배양하였고, 2일 후 성체 초파리는 제거하였다. PFOS가 포함된 배지에서 태어난 1-2일된 초파리는 표준 배지에서 3일 적응되었으며 4-5일된 수컷 초파리를 실험에 사용하였다(Fig. B). CO₂ 마취된 초파리는 수집하여 분석 전까지 -80 °C에서 보관하였다.

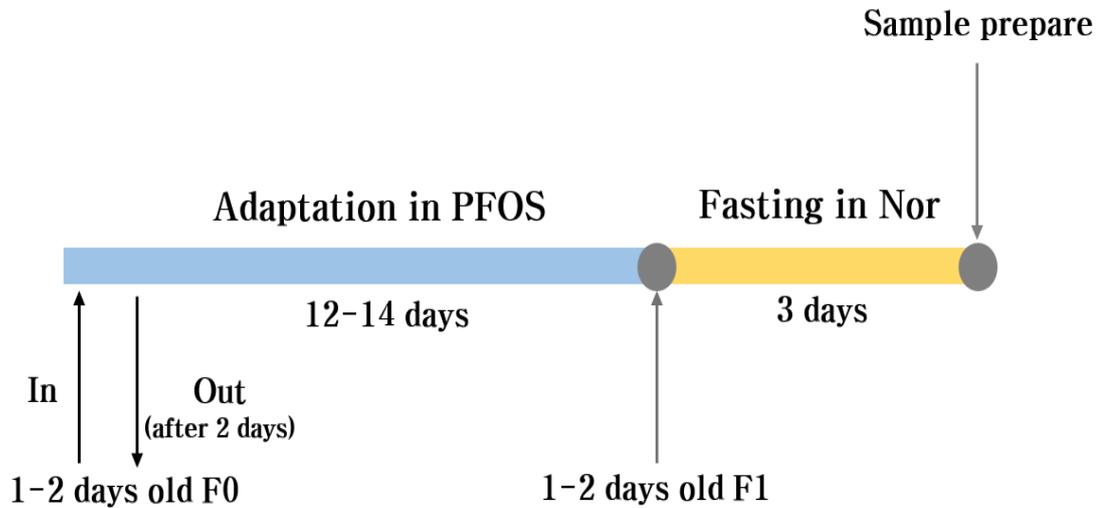


Figure B. Low dose exposure to perfluorooctanesulfonic acid in a *Drosophila melanogaster* model.

2. 방법

1) Lifespan assay

초파리는 PFOS 0.2 nM, 2 nM 및 20 nM 함유된 배지에서 태어난 지 1-2일 된 수컷 초파리를 사용하였고 2 mL 표준 배지가 포함된 vial에서 배양하였다. 각 그룹당 10마리씩 5개의 vial에 분류하였고, 새로운 배지를 매 4일마다 제공하였다 (Fig. C). 환경은 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 60-70%, 12시간 명암주기 설정되었으며 수명은 1일 AM 8:30과 PM 8:30에 두 번 측정하였다. 결과를 비교하기 위하여 평균과 중앙값을 사용하였다.

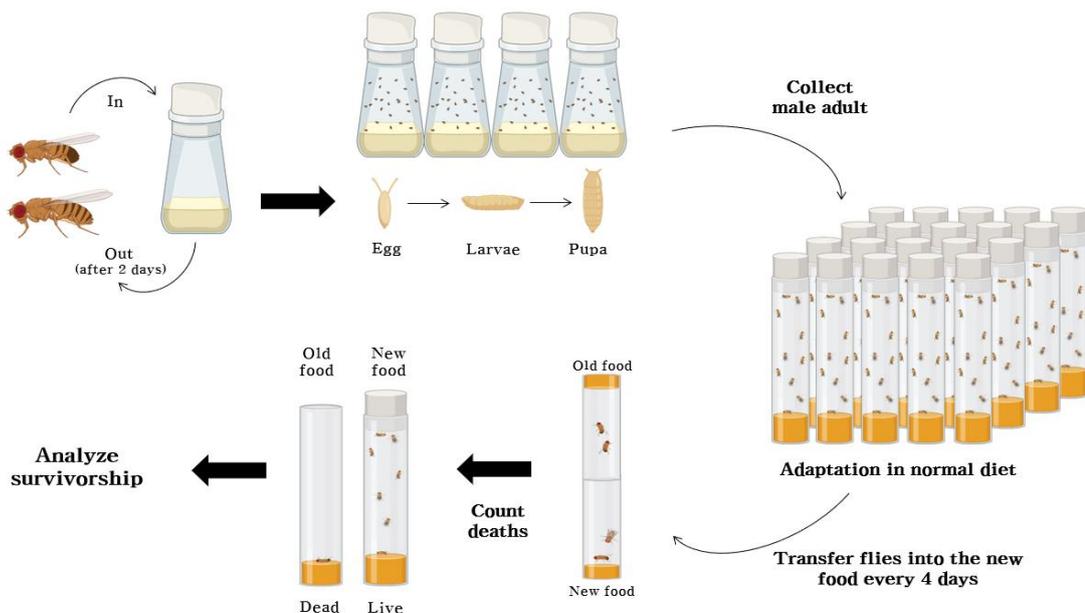


Figure C. Simplified schematic of a *Drosophila melanogaster* lifespan assay

2) Prepare sample for *Drosophila melanogaster*

초파리는 35마리의 수컷 초파리를 CO₂ 마취 후 1.5 mL tube에 각각 수집하여 -80 °C 보관하였다. 5%의 Triton X-100 (Sigma Aldrich, USA.) 희석액 500 µL로 이용하여 균질화 하였다. 80-100°C에서 가열 후, Microcentrifuge (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)을 이용하여 3분간 25°C에서 원심분리(12,000 × g) 후 상층액으로 사용하였다.

3) Glucose Content Analysis

Glucose 함량 분석은 DNS (Dinitrosalicylic acid)법을 이용하여 측정하였다. DNS법은 DNS와 Rochelle 염으로 발색하여 흡광도를 측정하는 정량 분석법으로 DNS Reagent는 3,5-dinitrosalicylic acid, NaOH, Rochelle salt 및 Na metabisulfite를 증류수에 혼합 후 phenol을 넣어 구성하였다. 초파리 균질액은 3차 증류수로 3배 희석하여 실험에 사용하였다. 희석액 200 µL과 DNS Reagent 600 µL을 가하여 100°C에서 5분 가열 후 냉각시킨 후 96-well plate에 분주한 후, Microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 Glucose 표준 곡선과 비교하여 상대적인 함량을 측정하였다. 초파리 균질액의 Glucose 함량은 초파리 무게(mg)로 보정하였으며, 실험은 3회 반복하였다.

4) Protein Content Analysis

Protein 함량 분석은 BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, USA)를 활용하여 측정하였다. 초파리 균질액은 3차 증류수로 3배 희석하여 실험에 사용

하였다. Reagent A와 Reagent B는 50:1 비율의 혼합액을 사용하였으며, 96-well plate의 1개의 well에 희석된 상층액(20 μ L)과 working reagent(200 μ L) 첨가하여 37°C에서 빛을 차단하고 30분간 배양하였다. Microplate reader를 사용하여 562 nm 흡광도를 측정하였다. 시료의 Protein 함량은 bovine serum albumin의 표준 곡선과 비교하여 상대적인 함량을 측정하였다. 초파리 균질액의 Protein 함량은 초파리 무게(mg)로 보정하였으며, 실험은 3회 반복하였다.

5) Triglyceride (TG) Content Analysis

Triglyceride(TG) 함량은 Triglyceride Quantification Kit (Sigma Aldrich, USA)를 사용하여 Colorimetric Detection 방법을 이용하여 측정하였다. 초파리 균질액은 3차 증류수로 10배 희석한 후, TG assay buffer를 사용하여 20배 희석하여 실험에 사용하였다. 96-well plate에 lipase 2 μ L 및 시료 희석액 50 μ L을 첨가하여 20분 동안 배양하였다. 그 후 TG assay buffer 46 μ L, TG probe 2 μ L, 및 Triglyceride enzyme mix 2 μ L을 첨가한 후 실온에서 빛을 차단하고 30 분간 반응시켰다. Microplate reader를 사용하여 570 nm 흡광도를 측정하였다. 시료의 TG 함량은 triglyceride 표준 곡선에 따라 상대적인 함량을 측정한 후, well 당 시료의 부피(μ L)로 나누어 준 후, TG의 분자량(885.4 ng/nmole) 곱하여 계산하였다. 초파리 균질액의 TG 함량은 초파리 무게(mg)로 보정하였으며, 실험은 2회 반복하였다.

6) Analysis of Sleep Behavioral

Drosophila Activity Monitoring(DAM) system (TriKinetics, Waltham, MA, U.S.A)은 투명한 vial에 수컷 초파리를 한 마리씩 넣고 중앙에 위치한 적외선

센서를 통해 1분 간격으로 움직임의 변화를 측정하였다. PFOS 0.2 nM, 2 nM 및 20 nM 포함된 배지에 태어난 1-2일된 성체 초파리를 표준 배지에서 3일간 배양한 후, sucrose-agar (5% sucrose, 3% agar) 배지가 포함된 개별적인 vial에 보관 후에 24시간 적응기간($23 \pm 1^\circ\text{C}$, 60-70%, 명암주기 12:12)을 진행 후 4일간 행동의 변화를 기록하였다. 모든 기록은 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 일정한 어두운 환경 속에서 4일간 1분마다 기록하였고, Actogram J software (NIH, Bethesda, MD, USA)를 사용하여 시각화 하였다. 수면 활성도는 5분 이상 수면을 유지한 횟수(Sleep bouts), 총 수면 시간의 합(Sleep count)을 분석하였고, 5분 이상 비활동이 지속되면 수면기간으로 평가하였다.

7) Video Analyses of Locomotor Activity

PFOS 0.2 nM, 2 nM 및 20 nM가 포함된 배지에서 태어난 성체 초파리를 표준 배지를 3일 제공한 후 지름 8mm, 높이 0.1mm 원형 arena 9개에 각각 초파리를 한 마리씩 넣고 5분간 초파리 움직임을 EthoVision-XT System (Noldus Information Technology, Netherlands)으로 분석하였다. 행동분석 지표는 이동거리 (Distance moved), 속도(Velocity), 활동(Movement), 비활동(Not Moving), 이동성 (Mobility)의 5개 항목을 평가하였다. 총 이동거리(Distance moved)는 초파리의 일반적인 활동 추정치로 사용되었고, 5분 관찰 기간 동안 초파리가 이동한 거리를 측정하였다. 이동속도(Velocity)는 5분 관찰 기간동안 움직이는 속도로 측정되었다. Movement에서 활동(Moving)은 0.1 cm/s 이상의 속도로 움직이는 것으로 정의하였고, 비활동(Not Moving)은 0.02 cm/s 미만의 움직임으로 정의하였다. 이동성 (Mobility)은 초파리의 body point로부터 공간 이동의 pixel 변화 값을 뜻한다.

3. 통계 분석

실험 결과는 평균±표준오차 로 표시되었다. 통계 분석은 SPSS (Statistical Package for Social Science)를 사용하였다. ANOVA 분석 후 Tukey의 다중 비교 테스트로 분석하였다. 모든 결과는 유의성이 $p < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Effect of PFOS on *Drosophila melanogaster* Lifespan

PFOS 저용량 장기노출 후 태어난 초파리의 수명의 변화에 영향이 미치는지 알아보기 위하여 수명관련 실험을 진행하였다. 정상대조군과 PFOS 노출군의 초파리 수명 결과는 Figure 1 에 나타내었다. 초파리에서 수명 결과는 정상대조군(NOR)과 비교하였을 때, 모든 농도의 PFOS 노출군에서 유의적으로 감소한 것을 확인하였다 (Fig. 1A). 평균 수명에서는 PFOS 0.2 nM 노출군은 정상대조군과 비교하여 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다(Fig. 1B). PFOS 2 nM 및 20 nM 노출군에서는 유의적인 평균 수명의 감소를 보였다 ($p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively; Fig. 1B).

Lau et al(2003) 연구에서 Rat 의 출생 전 PFOS 노출 후 자손의 생존 결과를 측정하였을 때, 용량 의존적으로 생존이 감소되었다. 10 mg/kg PFOS 에 노출된 후 태어난 자손은 30-60 분 이내에 빈사 상태가 되었으며 곧 모든 개체가 사망하였고, 5 mg/kg PFOS 에 노출된 후 태어난 자손은 빈사 상태가 되었지만 8-12 시간 동안 생존한 결과를 도출하였다. 그 외 나머지 PFOS 노출군도 대조군과 비교하였을 때, 생존율 감소 결과를 나타내었다 (Lau et al., 2003).

Wang et al(2011) 연구에서는 *zebrafish* 의 출생 전 PFOS 노출되었을 때, 대조군과 비교하여 250 µg/L 의 PFOS 에 노출된 유충은 8 일 후 사망하였고, 50 µg/L PFOS 에 노출된 유충은 생존율이 감소하였다 (Wang et al., 2011).

PFOS 의 농도별 노출이 초파리 생존율에 미치는 영향은 Figure 2 에 나타내었다. 정상대조군 초파리의 최대 수명은 80 일하였고, 평균 수명은 65 일이었다. PFOS 0.2 nM 노출된 초파리의 최대 수명은 77 일하였고, 평균 수명은 57 일이었으며 정상대조군과 비교하여 유의적인 감소를 보였다($p < 0.01$; Fig. 2A). PFOS 2nM 에 노출된 초파리는 최대 수명이 76 일 이었으며 평균 수명은 52 일로 정상대조군 대비 유의적으로 감소하였다($p < 0.01$; Fig.2B). PFOS 20nM 에 노출된 초파리는 최대 수명은 72 일, 평균 수명은 48 일로 정상대조군 대비 유의적인 감소를 보였으며($p < 0.001$; Fig. 2C), PFOS 의 농도가 증가함에 따라 평균 수명이 유의적으로 감소하는 경향을 확인하였다.

Wang et al(2010) 연구에서 *Drosophila melanogaster* 모델 PFOA 노출 시 수명 결과는 대조군, PFOA 100 µM 및 500 µM 의 평균 수명은 각각 45.00 ± 1.53 , 43.00 ± 0.98 , 34.00 ± 2.44 일이었으며, 대조군과 PFOA 500 µM 노출군 생존은 유의하게 감소된 결과를 확인하였다 (Wang et al., 2010).

Sana et al(2021) 연구에서 *Caenorhabditis elegans* 모델 PFOA 노출 시 수명 결과는 대조군에 비하였을 때, PFOA 0.1 µM 에서부터 고농도 노출군까지 유의적인 생존율 감소가 나타났다. PFOA 2 µM 경우 4 일째 첫 사망이 나타났으며 20 일째 모든 개체수가 사망하였다. 대조군의 경우 8 일째 사망하였고, 최대 수명은 26 일로 나타났다(Sana et al., 2021). PFOS 의 고농도 단기 노출에 따른 생존율 감소는 기존에 많이 보고되었으나, 본 연구에서는 저농도의 PFOS 를 장기간 노출시켰을 때 초파리의 생존율이 감소하는 결과를 확인하였다.

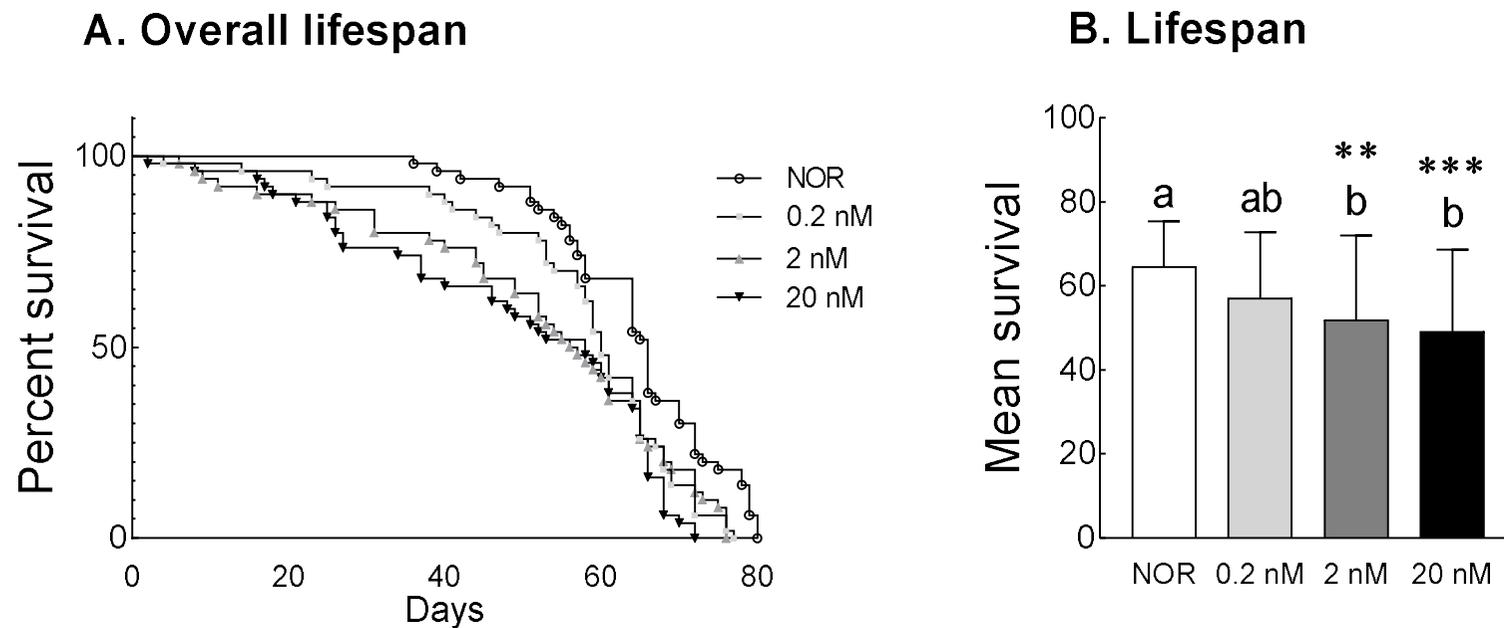
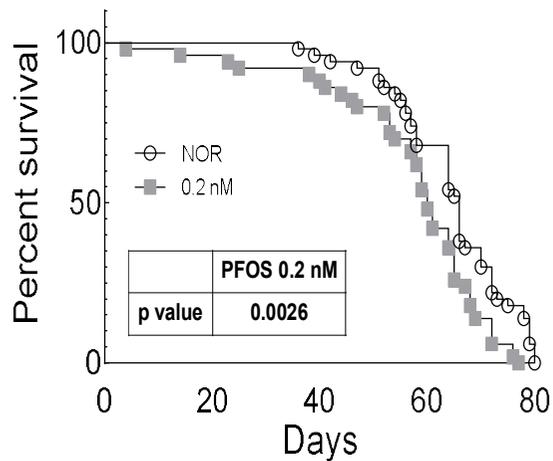


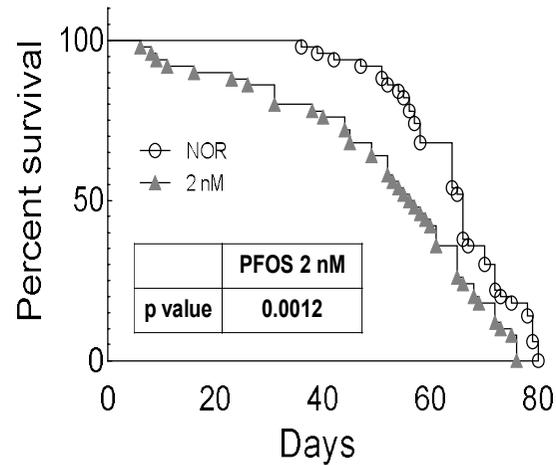
Figure 1. Effects of PFOS on lifespan, and mean survival in *Drosophila melanogaster*

The lifespan of *Drosophila melanogaster* born in the PFOS group was compared with that of the normal (NOR) group. (A) Overall lifespan (B) Lifespan of average per concentration PFOS. Value is the means \pm standard error of mean (S.E.M). Significant differences at ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. NOR group by Tukey's test.

A. PFOS 0.2 nM



B. PFOS 2 nM



C. PFOS 20 nM

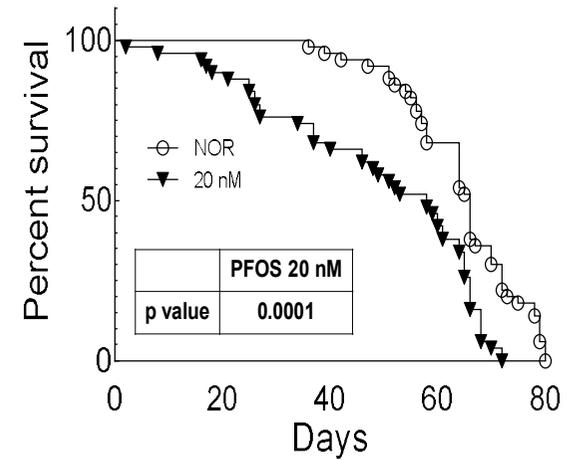


Figure 2. Comparison the lifespan of normal *Drosophila melanogaster* with each group born in PFOS

The lifespan of *Drosophila melanogaster* born in the PFOS group was compared with that of the normal (NOR). Value are the means \pm standard error of the mean (S.E.M) for each group. Significant differences through Log-rank (Mantel-Cox) test.

2. Effect of PFOS on Body Composition in *Drosophila melanogaster*

PFOS 의 저농도 장기 노출에 따른 초파리 체성분의 변화를 Figure 3 에 나타내었다. Protein 함량의 경우 노출된 PFOS 의 농도가 증가함에 따라 protein 함량이 감소하는 경향을 보였으며, 특히 PFOS 2 nM 및 20 nM 노출군에서 정상대조군 대비 유의적인 감소를 보였다($p < 0.01$; Fig. 3B). 반면 PFOS 의 농도가 증가함에 따라 TG 의 함량이 용량 의존적으로 증가하는 경향을 보였으며 PFOS 2 nM 및 20 nM 노출군에서 정상대조군보다 유의적으로 TG 함량이 높게 나타났다($p < 0.01$; Fig. 3C). Glucose 함량의 경우 정상대조군과 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 3A).

Yang et al(2015) 연구에서는 mice 모델에 식수로 organic extraction 노출 후 혈액 albumin 감소함을 확인하였고, 간에서 단백질 합성 기능 손상시키는 것을 나타냈다 (Yang et al., 2015). Albumin 은 혈장 단백질 중 한 종류이며, 항산화 및 염증, 투과성 조절 등의 다양한 기능을 가지고 있다. Albumin 은 간 기능 손상에 대해 biomarker 로 작용하며 간경변, 비알코올성지방간 질환 영향에 대해 역할을 수행하고 있다 (Sun et al., 2019).

Kim et al(2021) 연구에서는 *megalin*-UAS RNAi 전환 *Drosophila melanogaster* 모델 부모 세대에 PFOS 노출 후 egg 의 영양소 결과에서 cholesterol 함량 증가 결과가 나타났다. 저밀도 지단백 수용체(LDLR)이자 MERC 구성요소인 *megalin* (*Lrp2*)은 난모 세포가 성숙하는 동안 난자로 영양분을 운반하는 기능을 하여 배아에게 필수적이며, 특히 *Megalin* 이 운반하는

apolipoprotein E 는 곤충의 생존, 발달 등에 중요한 역할을 수행하는 것으로 보고되었다 (Kim et al., 2021).

Cheng et al(2016) 연구에서는 *zebrafish* 모델에서 PFOS 의 만성 노출은 간의 TG 및 총 콜레스테롤을 증가시켰으며 지질 대사의 이상을 야기하였다. 특히 간에서 ATP 함량이 감소하였으며 VLDL/LDL 분비가 감소하였다. ATP 함량의 감소는 미토콘드리아 β 산화가 억제와 관련이 있으며, β 산화의 억제로 과도한 지방산이 축적되어 간 지질의 항상성 장애를 유발할 수 있다. 또한 저밀도지질단백질(LDL)은 초저밀도지단백질(VLDL)의 분해산물을 간에서 말초조직으로 지질을 운반하여 저장하는 역할을 하며, PFOS 의 만성 노출 시 간에서 지질 운반을 억제하고 지질을 축적시키는 것으로 확인되었다(Cheng et al., 2016).

Wang et al(2014) 연구에서는 PFOS 노출 후 mice 모델에서 간 조직 비대 및 지방 함량 증가가 나타났으며 cholesterol, HDL, LDL 수치가 감소되었다. 고밀도지단백질(HDL)은 말초조직에서 간으로 cholesterol 을 운반하며 LDL 은 VLDL 의 저장 또는 분비를 위해 간에서 말초조직으로 지질을 운반한다. 지질 대사 이상으로 인하여 간에서 말초조직으로의 운반이 억제될 수 있고 간에 축적된 지질은 많았으나 복부 지방 저장량은 감소하였다 (Wang et al., 2014).

Horikoshi et al(2017) 연구에서는 PFOS 와 소아 비만 발생 가능성에 대한 영향을 확인하였다. 출생 시부터 66 개월까지의 여아에서 PFOS 농도 함량이 높을수록 BMI(body mass index)가 증가함으로 나타났다. 혈청 PFOS 농도가 높을수록 adiposity rebound(AR)의 조기 발병과 관련이 있을 수 있으며, 이는 성인 비만 및 대사 증후군 위험 증가와 관련되어진다 (Horikoshi et al., 2021).

PFOS 노출 시 지방축적의 기전으로는 간의 미토콘드리아 지방산 β 산화 억제되어지며 TG 합성에 사용되는 지방산의 수준 증가, 지질세포 수와 크기를 증가시킨다 (Wang et al., 2022). Perfluoroalkyl acids(PFAA) 노출은 mice 모델에서 간에서 지질 흡수를 증가시켜 지방증을 유도함을 발견하였다. 간에서의 지질 흡수는 VLDL 에서 TG 의 가수분해를 조절하며 지단백질 지방분해효소(LPL)에 의하여 조절되어진다. LPL 은 특정 보조인자인 ApoCIII 와 ApoAV 활성화로 인해 발현되어진다. ApoAV 발현 증가, LPL 활성화 및 간의 TG 유입 증가는 PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor)의 활성화 증가와 관련되어진다 (Das et al., 2017).

PPAR 이란 핵 수용체의 한 종류로써 많은 세포 유형에서 지질 대사의 조절 역할하는 인자이다. PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor- α)는 간에서 주로 발현되는 PPAR 으로 포도당신생합성(gluconeogenesis)를 조절하는 전사 인자이며, 간에서 지방산 β 산화 촉진을 유발한다. PFOS 노출 시 Triglyceride 축적은 미토콘드리아 내 지방산 β 산화 촉진으로 간의 TG 유입이 증가되고 β 산화 촉진하는 기전인 PPAR 합성 증가함을 확인하였다(Cave et al., 2016).

Lin et al(2022) 연구에서는 PFOA 를 *Caenorhabditis elegans* 의 유충기 모델에 노출 시에 대한 연구 결과를 나타내었다. PFOS 및 PFOA 1 μ M 노출군에서 Triglyceride 함량이 유의하게 증가하였고 식이 섭취량을 알기 위한 척도인 pharyngeal pumping 분석 결과 유의하게 감소함을 나타내었다. 따라서 PFOS 및 PFOA 노출 시 Triglyceride 함량 증가는 식이 섭취량에 의한 것이 아니라 지방 대사 이상으로 인한 것으로 결과를 확인하였다 (Lin et al., 2022).

본 연구에서는 유충기 기간 PFOS 저용량 노출 후 성체의 체내구성에서 Protein 은 유의적으로 감소하고 Triglyceride 은 유의적으로 증가하는 결과를 확인하였다.

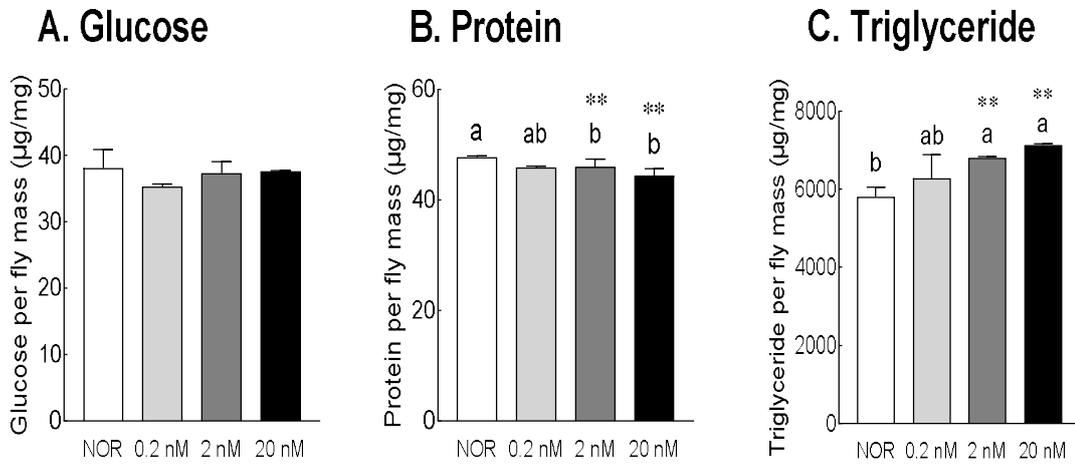


Figure 3. Effect of PFOS on Body Composition in *Drosophila melanogaster*.

(A) Glucose per fly mass (µg/mg), (B) Protein per fly mass (µg/mg), (C) Triglyceride per fly mass (µg/mg). Value are the means ± standard error of the mean (S.E.M) for each group. Significant differences at * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ vs. normal (NOR) group by Tukey's test.

3. Effects of PFOS on *Drosophila melanogaster* locomotor activity

Actogram(Fig. 4A)에서 검은색 바로 표시된 부분은 밤 시간대로 오후 10 시부터 오전 10 시를 뜻하며, 흰색 바로 표시된 부분은 낮 시간대로 오전 10 시부터 오후 10 시까지를 의미한다. 초파리의 밤 시간대 및 낮 시간대의 움직임을 수치화하여 Figure 4 에 나타내었다.

PFOS 의 농도가 증가함에 따라 밤 시간대의 움직임 횟수가 용량 의존적으로 증가하였다(Fig. 4B). 특히 PFOS 2 nM 및 20 nM 에 노출된 초파리는 정상대조군과 비교하여 유의적으로 움직임이 증가하였다($p < 0.01$; Fig. 4B). 낮 시간대의 움직임 횟수에서는 정상대조군과 비교하여 모든 PFOS 노출군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 4C).

Ulhaq et al(2013) 연구에서는 *zebrafish* 유충 모델에 PFOS 노출시켰을 때 활성 수영 속도, 수영거리, 평균 수영 속도, 상대 수영 시간 증가함을 결과 확인하였다. *Zebrafish* 유충의 행동 측정은 화학물질에 대한 행동장애의 유발 여부를 방법으로 변화를 감지하기 위해 빛과 어둠에서 측정되었고, 갑작스러운 어둠은 운동 행동에서 즉각적이고 과잉행동 유발되는 원리를 이용하여 화학 물질 노출 후의 행동 변화를 기록하였다 (Ulhaq et al., 2013).

기존에 PFOS 의 노출 후 짧은 기간동안 행동 변화를 측정한 결과는 보고되었으나, 장기간 PFOS 노출에 따른 행동 변화는 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 유충기에 PFOS 의 저용량 장기 노출에 따른 밤시간대 행동의 변화를 확인하였다.

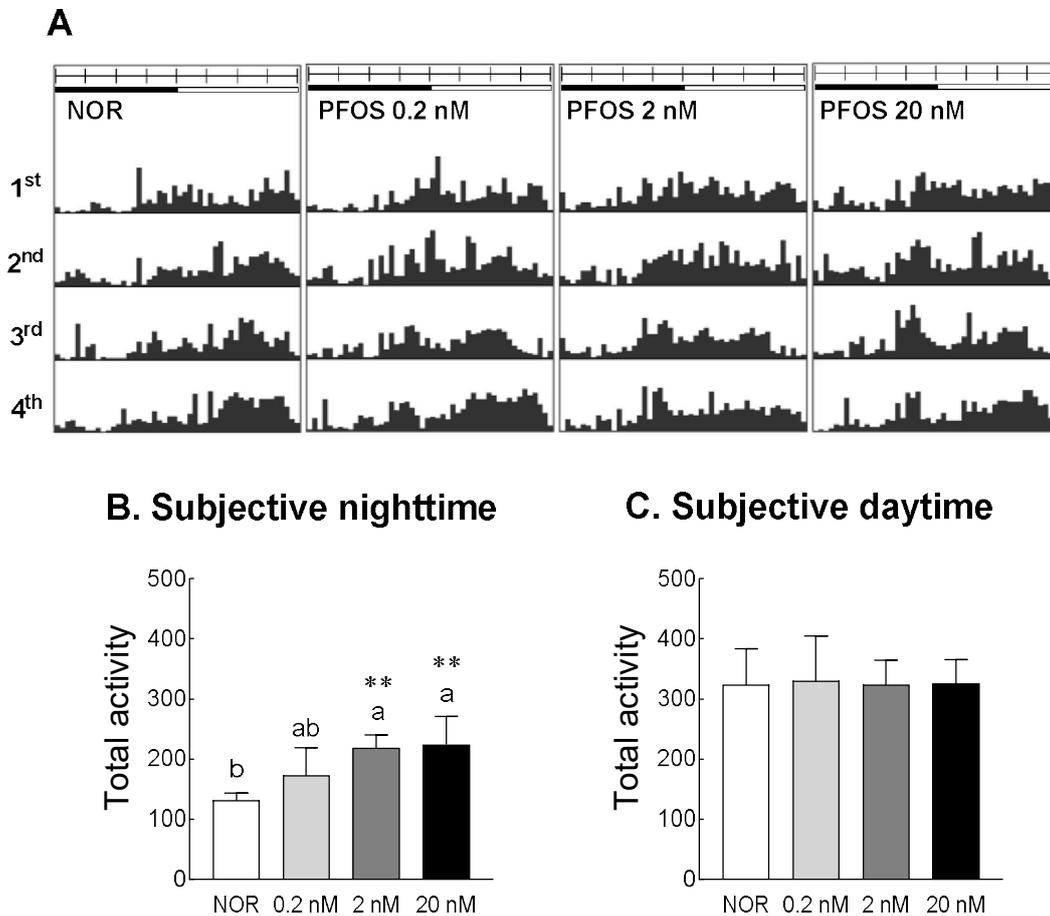


Figure 4. Effects of PFOS on locomotor activity in *Drosophila melanogaster*.

Behavior analysis was proceeded in constant darkness for 4 days. Black/white bars on top of the actograms indicate dark (22:00 to 10:00) and light (10:00 to 22:00) phases. (A) The average activity of 4 days in 30 min increments based on DAM recordings from flies by Actogram J (B) Activity during the nighttime (C) Activity during the daytime. Value is the means \pm standard error of each group's mean (S.E.M). Significant differences through Tukey's multiple test. ** $p < 0.01$ vs Normal group.

4. Effect of PFOS on sleep parameters in *Drosophila melanogaster*

PFOS의 노출이 초파리의 수면 행동에 미치는 영향을 Figure 5에 나타내었다. 총 수면 시간(sleep time)은 PFOS의 농도가 증가함에 따라 용량 의존적으로 감소하는 경향을 보였으며(Fig. 5A), 특히 2 nM 및 20 nM PFOS 노출군은 정상대조군과 비교하여 유의적으로 수면 시간이 감소하였다($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively; Fig. 5A). 수면 기간동안 깨어난 횟수(sleep bout)는 고농도의 PFOS 노출군에서 정상대조군 대비 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다(Fig. 5B).

Mshaty et al(2020) 은 mice 모델에서 PFOS의 노출에 따른 gamma-aminobutyric acid (GABA) 및 glutamate의 기능 변화를 보고하였다. PFOS의 노출은 세포 외 glutamate 수치 증가 및 glutamine 합성 효소의 mRNA 발현 감소를 확인하였으며, 이는 신경 시냅스 틈새에서 흡수를 늦추고 세포 외 축적을 유도하는 것으로 나타났다. 세포 외 glutamate 가 과잉 축적되면 자극을 통해 뉴런으로 가는 내부 Ca^{2+} 전류를 증가시켜 시냅스 기능에 영향을 미치며, 이는 세포 내 Ca^{2+} 증가로 이어져 시냅스의 생성을 억제한다 (Mshaty et al., 2020).

Huang et al(2022) 연구에서 임산부를 대상으로 PFOS의 노출은 유의적인 수면 시간의 감소, 수면 중 깨어남의 증가를 보고하였다. 주관적인 수면의 질은 Pittsburgh Sleep Quality Index 설문지를 이용해 측정되었으며 PFOS의 노출로 수면 장애 위험증가, 수면 효율 저하 및 수면 시간 단축이 확인되었다 (Huang et al., 2022).

Xie et al(2022) 연구에서 태아기에 PFOS 노출된 2-4세 아동의 부모에게 Child Behavior Checklist (Ages 1.5-5)평가를 통하여 행동 발달 정보를 수집한 결과, 수면 문제가 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다 (Xie et al., 2022).

PFOS 노출 시 신경 세포에서는 PFOS 축적 및 세포 내 Ca^{2+} 증가 유도를 확인하였다. Ca^{2+} 는 신경전달물질 분비를 촉진하며 아세틸콜린(acetylcholine), 도파민(dopamine) 등이 방출되어 자극을 전달한다. 이러한 신경자극이 뇌, 근육, 행동순으로 전달되어진다 (Liu et al., 2011).

세포 내 Ca^{2+} 증가는 도파민 방출 증가되어지는데 발생되어지는 질병 중 하나가 주의력결핍 과잉행동장애(ADHD)이다. ADHD 는 부주의 및 과잉 행동 충동 패턴으로 하는 신경 발달 장애로 산만함, 작업 유지 어려움을 나타낸다. ADHD 는 수면 장애를 동반하는 경우가 높는데, 많은 연구에서 ADHD 와 수면 장애에 대한 연관성인 수면 시작의 어려움, 짧은 수면, 수면의 질 저하, 수면 중 깨어남 증가를 확인하였다 (Vazquez et al., 2022).

PFOS 노출 시 세포 내 Ca^{2+} 증가하여 신경전달물질인 아세틸콜린, 도파민 증가를 유발하며 신경 행동 장애의 기전으로 설명되어진다. 신경 행동 장애인 ADHD 는 많은 연구에서 수면 장애에 대한 연관성이 확인되어졌다. 본 연구에서는 유충기 PFOS 저용량 노출로 인해 밤 시간대의 수면 행동의 변화를 확인하였으며, PFOS 의 노출은 용량 의존적으로 총 수면 시간을 감소시켰다.

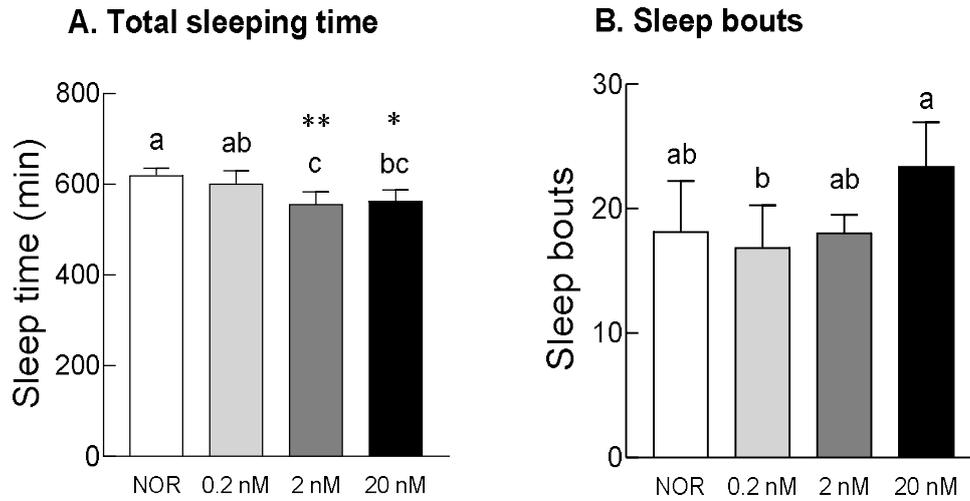


Figure 5. Effects of PFOS on sleep parameters in *Drosophila melanogaster*

(A) Total sleeping time (B) Sleep bouts. Value are the means \pm standard error of the mean (S.E.M) for each group. Significant differences at * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. normal (NOR) group by Tukey's test.

5. Effect of PFOS on behavioral changes during daytime in *Drosophila melanogaster*

PFOS 노출에 따른 초파리의 행동 변화를 Figure 6에 나타내었다. PFOS의 노출 용량이 증가함에 따라 모든 움직임 지표가 증가하는 경향을 보였으며 특히 PFOS 20 nM 노출군은 움직인 거리(distance moved; $p < 0.01$; Fig. 6A), 속도(velocity; $p < 0.01$; Fig. 6B), 움직임(moving; $p < 0.05$; Fig. 6C), 및 운동성(mobility; $p < 0.001$; Fig. 6E)이 정상대조군과 비교하여 유의적으로 증가하였다. 또한 움직이지 않은 시간(Not moving)은 고농도(20 nM)의 PFOS 노출군에서 정상대조군 대비 유의적인 감소를 보였다($p < 0.05$; Fig. 6D).

Spulber et al(2014) 연구에서는 PFOS 노출된 *zebrafish* 유충에서 도파민 시스템 기반으로 행동 활동 및 패턴에 대한 영향을 관찰하였을 때, 과잉 행동 측정할 수 있는 척도로 visual motor response (VMR)을 통하여 움직임 측정에서 과잉행동 증가의 결과를 확인하였다. PFOS 노출이 행동 변화, 도파민 신호 결핍을 초래한다는 것을 나타내며 노출과 행동변화 사이에 보고된 역학적 연관성이 있음을 나타내었다. 도파민은 뇌에서 생성되는 신경 전달 물질로서 운동, 인지기능을 포함한 여러 생리적 기능에 관여하며 이러한 신경전달 기전은 주의력결핍 과잉행동장애(ADHD) 발생 기전으로 확인되었다 (Spulber et al., 2014).

Johansson et al(2008) 연구에서는 아동기 PFOS 노출 시 성인기 mice 모델에서 콜린성 시스템(cholinergic system) 변화에 따라 자발적 행동 장애에 대한 결과를 확인하였다. 콜린(choline)은 신경 전달 물질인 아세틸콜린의 주요성분으로 기억, 학습, 주의력 등의 뇌 기능에 관여되어진다. Mice

모델에서 25 분 동안 적외선 자동화 장치가 배치된 공간 운동 활동을 측정 한 자발적 행동 테스트(Spontaneous behavior tests) 초반에는 행동 감소하는 경향을 보였으나, 후반에는 고활동성이 관찰되었다. 초반 감소된 활동은 새로운 환경에 대한 불안 증가를 의미한다. 모델에서의 자발적인 행동은 인지기능의 척도로써 작용하며, 신경 시냅스에서 감각 운동 신경을 통한 입력 출력 시스템에 의존하는 기능을 반영하므로 환경 적응과 이전에 얻은 새로운 정보를 통합하여 인지 기능의 척도가 되는 능력을 확인하는 것이다 (Johansson et al., 2008).

Hoffman et al(2010)연구에서 12-15 세 대상으로 혈액 내 PFOS 수치 함량과 주의력결핍 과잉행동장애(ADHD)의 연관성 확률이 증가함을 확인하였다. ADHD 기준은 NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey)에서 ADHD 에 대한 부모의 보고서를 사용하였으며, 대상자의 혈청에서 PFOS 함량을 조사하였다 (Hoffman et al., 2010).

본 연구에서 PFOS 농도 의존적인 행동 증가가 유의적으로 확인되었으며 이는 이전 연구에서 태아기 및 아동기 PFOS 노출로 인한 행동 변화의 결과와 일치함을 확인하였다 (Vuong et al., 2021).

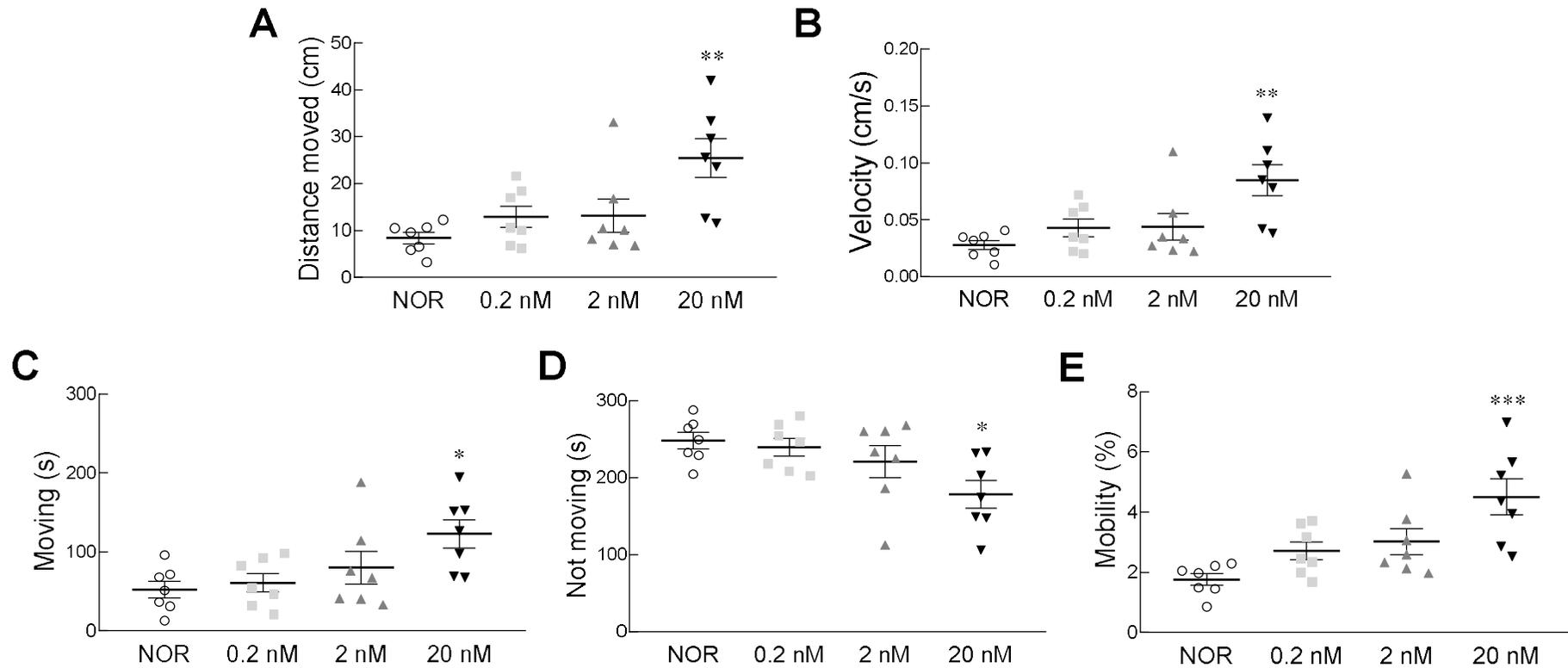


Figure 6. The Activity during the 5-minute observation period is analyzed with the EthoVision-XT system.

(A) Distance moved, (B) Velocity, (C) Moving, (D) Not moving and (E) Mobility compared with normal (NOR). Value are the means \pm standard error of the mean (S.E.M) for each group. Significant differences at * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ vs. normal (NOR) group by Tukey's test.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 유충기 PFOS 저용량 장기노출 시 초파리 모델을 통하여 수명, 체성분 함량 변화 그리고 수면 및 행동 변화를 확인하고자 다음과 같은 방법을 사용하여 결과를 확인하였다.

1. 초파리는 cornmeal-agar 표준 배지(sucrose, cornmeal, dry-yeast, agar, propionic acid, and *p*-hydroxybenzoic acid methyl ester solution)에서 배양하였다. 실험군에서 초파리는 Cornmeal-agar 표준 배지에 0.2 nM, 2 nM 및 20 nM 의 PFOS 가 함유된 배지에서 태어난 지 1-2 일 된 초파리를 표준 배지에서 3 일간 배양 후 4-5 일된 수컷 초파리를 사용하였다.

2. 정상대조군과 PFOS 그룹에서 태어난 수명 측정하였다. 일정 공간에 습도(6-70%)와 온도($23 \pm 1^\circ\text{C}$), 12 시간 명암주기 설정하여 1 일에 2 번 확인하였다. 수명 측정 결과 정상대조군과 PFOS 노출군 수명을 비교하였을 때 모든 농도 PFOS 노출군에서 유의적으로 수명 감소 결과 확인하였다.

3. 체내 함량 변화를 확인하기 위하여 Triglyceride, Protein, Glucose 를 측정하였다. 정상대조군과 비교하였을 때 모든 PFOS 노출군에서 Triglyceride 함량이 유의적으로 증가하며, Protein 함량은 감소됨을 확인하였다.

4. *Drosophila* Activity Monitoring system 을 이용하여 4 일동안 초파리의 수면 행동을 측정하였다. Nighttime 에서의 운동 활동이 모든 PFOS 노출군에서 의존적으로 증가함 확인하였다. Daytime 에서 운동 활동은 정상대조군과 비슷한 결과를 보였다.

5. Video tracking 분석을 통하여 일정 arena 에서 5 분 동안 초파리의 행동 변화를 확인하였다. 정상대조군과 비교하였을 때, 20 nM PFOS 노출군에서 총 이동거리, 속도, 움직임, 이동성이 유의적으로 증가하였다.

본 연구 결과 초파리 모델을 통해 유충기 PFOS 저용량 장기노출 시에 대한 변화를 확인하였다. 실험 결과 초파리 모델에서 유충기 PFOS 저용량 장기노출은 수명 감소, 체내 Protein 함량의 감소와 Triglyceride 함량의 증가를 보였으며 수면시간 감소 및 밤 시간대 움직임을 증가시켰다.

V. 참고문헌

Blake, B.E., Pinney, S.M., Hines, E.P., Fenton, S.E., Ferguson, K.K., 2018. Associations between longitudinal serum perfluoroalkyl substance (PFAS) levels and measures of thyroid hormone, kidney function, and body mass index in the Fernald Community Cohort. *Environ Pollut* 242, 894-904.

Cave, M.C., Clair, H.B., Hardesty, J.E., Falkner, K.C., Feng, W., Clark, B.J., Sidey, J., Shi, H., Aqel, B.A., McClain, C.J., Prough, R.A., 2016. Nuclear receptors and nonalcoholic fatty liver disease. *Biochim Biophys Acta* 1859, 1083-1099.

Chaouch, A., Lasko, P., 2021. *Drosophila melanogaster*: a fruitful model for oncohistones. *Fly (Austin)* 15, 28-37.

Costello, E., Rock, S., Stratakis, N., Eckel, S.P., Walker, D.I., Valvi, D., Cserbik, D., Jenkins, T., Xanthakos, S.A., Kohli, R., Sisley, S., Vasiliou, V., La Merrill, M.A., Rosen, H., Conti, D.V., McConnell, R., Chatzi, L., 2022. Exposure to per- and Polyfluoroalkyl Substances and Markers of Liver Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Environ Health Perspect* 130, 46001.

Das, K.P., Wood, C.R., Lin, M.T., Starkov, A.A., Lau, C., Wallace, K.B., Corton, J.C., Abbott, B.D., 2017. Perfluoroalkyl acids-induced liver steatosis: Effects on genes controlling lipid homeostasis. *Toxicology* 378, 37-52.

Di Nisio, A., Rocca, M.S., Sabovic, I., De Rocco Ponce, M., Corsini, C., Guidolin, D., Zanon, C., Acquasaliente, L., Carosso, A.R., De Toni, L., Foresta, C., 2020. Perfluorooctanoic acid alters progesterone activity in human endometrial cells and induces reproductive alterations in young women. *Chemosphere* 242, 125208.

El-Shahawi, M.S., Hamza, A., Bashammakh, A.S., Al-Saggaf, W.T., 2010. An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants. *Talanta* 80, 1587-1597.

Fenton, S.E., Ducatman, A., Boobis, A., DeWitt, J.C., Lau, C., Ng, C., Smith, J.S., Roberts, S.M., 2021. Per- and Polyfluoroalkyl Substance Toxicity and Human Health Review: Current State of Knowledge and Strategies for Informing Future Research. *Environ Toxicol Chem* 40, 606-630.

Gardener, H., Sun, Q., Grandjean, P., 2021. PFAS concentration during pregnancy in relation to cardiometabolic health and birth outcomes. *Environ Res* 192, 110287.

Gebbink, W.A., Bossi, R., Riget, F.F., Rosing-Asvid, A., Sonne, C., Dietz, R., 2016. Observation of emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in Greenland marine mammals. *Chemosphere* 144, 2384-2391.

Graham, P., Pick, L., 2017. *Drosophila* as a Model for Diabetes and Diseases of Insulin Resistance. *Curr Top Dev Biol* 121, 397-419.

Grandjean, P., Andersen, E.W., Budtz-Jorgensen, E., Nielsen, F., Molbak, K., Weihe, P., Heilmann, C., 2012. Serum vaccine antibody concentrations in children exposed to perfluorinated compounds. *JAMA* 307, 391-397.

Guo, W., Pan, B., Sakkiah, S., Yavas, G., Ge, W., Zou, W., Tong, W., Hong, H., 2019. Persistent Organic Pollutants in Food: Contamination Sources, Health Effects and Detection Methods. *Int J Environ Res Public Health* 16, 4361.

Hoffman, K., Webster, T.F., Weisskopf, M.G., Weinberg, J., Vieira, V.M., 2010. Exposure to polyfluoroalkyl chemicals and attention deficit/hyperactivity disorder in U.S. children 12-15 years of age. *Environ Health Perspect* 118, 1762-1767.

Horikoshi, T., Nishimura, T., Nomura, Y., Iwabuchi, T., Itoh, H., Takizawa, T., Tsuchiya, K.J., 2021. Umbilical cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoic acid, and the body mass index changes from birth to 5 1/2 years of age. *Sci Rep* 11, 19789.

Hu, X.C., Andrews, D.Q., Lindstrom, A.B., Bruton, T.A., Schaidler, L.A., Grandjean, P., Lohmann, R., Carignan, C.C., Blum, A., Balan, S.A., Higgins, C.P., Sunderland, E.M., 2016. Detection of Poly- and Perfluoroalkyl Substances (PFASs) in U.S. Drinking Water

Linked to Industrial Sites, Military Fire Training Areas, and Wastewater Treatment Plants. Environ Sci Technol Lett 3, 344-350.

Huang, Y., Nian, M., Yu, G., Tian, Y., Zhang, J., Jiang, F., Zhang, J., Shanghai Birth, C., 2022. Environmental exposure to per- and polyfluoroalkyl substances and sleep disturbance in pregnant women: A prospective cohort study. Sci Total Environ 842, 156869.

Jian, J.M., Chen, D., Han, F.J., Guo, Y., Zeng, L., Lu, X., Wang, F., 2018. A short review on human exposure to and tissue distribution of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs). Sci Total Environ 636, 1058-1069.

Johansson, N., Fredriksson, A., Eriksson, P., 2008. Neonatal exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) causes neurobehavioural defects in adult mice. Neurotoxicology 29, 160-169.

Kim, J.H., Barbagallo, B., Annunziato, K., Farias-Pereira, R., Doherty, J.J., Lee, J., Zina, J., Tindal, C., McVey, C., Aresco, R., Johnstone, M., Sant, K.E., Timme-Laragy, A., Park, Y., Clark, J.M., 2021. Maternal preconception PFOS exposure of *Drosophila melanogaster* alters reproductive capacity, development, morphology and nutrient regulation. Food Chem Toxicol 151, 112153.

Lau, C., Thibodeaux, J.R., Hanson, R.G., Rogers, J.M., Grey, B.E., Stanton, M.E., Butenhoff, J.L., Stevenson, L.A., 2003. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: postnatal evaluation. Toxicol Sci 74, 382-392.

Lilienthal, H., Dieter, H.H., Holzer, J., Wilhelm, M., 2017. Recent experimental results of effects of perfluoroalkyl substances in laboratory animals - Relation to current regulations and guidance values. Int J Hyg Environ Health 220, 766-775.

Lin, C.Y., Lin, L.Y., Wen, T.W., Lien, G.W., Chien, K.L., Hsu, S.H., Liao, C.C., Sung, F.C., Chen, P.C., Su, T.C., 2013. Association between levels of serum perfluorooctane sulfate and carotid artery intima-media thickness in adolescents and young adults. Int J Cardiol 168, 3309-3316.

Lin, T.A., Huang, C.W., Wei, C.C., 2022. Early-life perfluorooctanoic acid (PFOA)

and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) exposure cause obesity by disrupting fatty acids metabolism and enhancing triglyceride synthesis in *Caenorhabditis elegans*. *Aquat Toxicol* 251, 106274.

Liu, X., Jin, Y., Liu, W., Wang, F., Hao, S., 2011. Possible mechanism of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate on the release of calcium ion from calcium stores in primary cultures of rat hippocampal neurons. *Toxicol In Vitro* 25, 1294-1301.

Lucas, K., Gaines, L.G.T., Paris-Davila, T., Nylander-French, L.A., 2023. Occupational exposure and serum levels of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): A review. *Am J Ind Med* 66, 379-392.

Lum, K.J., Sundaram, R., Barr, D.B., Louis, T.A., Buck Louis, G.M., 2017. Perfluoroalkyl Chemicals, Menstrual Cycle Length, and Fecundity: Findings from a Prospective Pregnancy Study. *Epidemiology* 28, 90-98.

Mackay, T.F., Anholt, R.R., 2006. Of flies and man: *Drosophila* as a model for human complex traits. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 7, 339-367.

Mshaty, A., Haijima, A., Takatsuru, Y., Ninomiya, A., Yajima, H., Kokubo, M., Khairinisa, M.A., Miyazaki, W., Amano, I., Koibuchi, N., 2020. Neurotoxic effects of lactational exposure to perfluorooctane sulfonate on learning and memory in adult male mouse. *Food Chem Toxicol* 145, 111710.

Musselman, L.P., Fink, J.L., Narzinski, K., Ramachandran, P.V., Hathiramani, S.S., Cagan, R.L., Baranski, T.J., 2011. A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. *Dis Model Mech* 4, 842-849.

Pandey, U.B., Nichols, C.D., 2011. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacol Rev* 63, 411-436.

Rappazzo, K.M., Coffman, E., Hines, E.P., 2017. Exposure to Perfluorinated Alkyl Substances and Health Outcomes in Children: A Systematic Review of the Epidemiologic Literature. *Int J Environ Res Public Health* 14, 691.

Skogheim, T.S., Weyde, K.V.F., Aase, H., Engel, S.M., Suren, P., Oie, M.G., Biele, G., Reichborn-Kjennerud, T., Brantsaeter, A.L., Haug, L.S., Sabaredzovic, A., Auyeung, B., Villanger, G.D., 2021. Prenatal exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and associations with attention-deficit/hyperactivity disorder and autism spectrum disorder in children. *Environ Res* 202, 111692.

Spulber, S., Kilian, P., Wan Ibrahim, W.N., Onishchenko, N., Ulhaq, M., Norrgren, L., Negri, S., Di Tuccio, M., Ceccatelli, S., 2014. PFOS induces behavioral alterations, including spontaneous hyperactivity that is corrected by dexamfetamine in *zebrafish* larvae. *PLoS One* 9, e94227.

Staats, S., Luersen, K., Wagner, A.E., Rimbach, G., 2018. *Drosophila melanogaster* as a Versatile Model Organism in Food and Nutrition Research. *J Agric Food Chem* 66, 3737-3753.

Starnes, H.M., Rock, K.D., Jackson, T.W., Belcher, S.M., 2022. A Critical Review and Meta-Analysis of Impacts of Per- and Polyfluorinated Substances on the Brain and Behavior. *Front Toxicol* 4, 881584.

Sun, L., Yin, H., Liu, M., Xu, G., Zhou, X., Ge, P., Yang, H., Mao, Y., 2019. Impaired albumin function: a novel potential indicator for liver function damage? *Ann Med* 51, 333-344.

Timmermann, C.A., Budtz-Jorgensen, E., Jensen, T.K., Osuna, C.E., Petersen, M.S., Steuerwald, U., Nielsen, F., Poulsen, L.K., Weihe, P., Grandjean, P., 2017. Association between perfluoroalkyl substance exposure and asthma and allergic disease in children as modified by MMR vaccination. *J Immunotoxicol* 14, 39-49.

Ulhaq, M., Orn, S., Carlsson, G., Morrison, D.A., Norrgren, L., 2013. Locomotor behavior in *zebrafish* (*Danio rerio*) larvae exposed to perfluoroalkyl acids. *Aquat Toxicol* 144-145, 332-340.

Vazquez, J.C., Martin de la Torre, O., Lopez Palome, J., Redolar-Ripoll, D., 2022.

Effects of Caffeine Consumption on Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) Treatment: A Systematic Review of Animal Studies. *Nutrients* 14.739.

Vieira, V.M., Hoffman, K., Shin, H.M., Weinberg, J.M., Webster, T.F., Fletcher, T., 2013. Perfluorooctanoic acid exposure and cancer outcomes in a contaminated community: a geographic analysis. *Environ Health Perspect* 121, 318-323.

Vuong, A.M., Webster, G.M., Yolton, K., Calafat, A.M., Muckle, G., Lanphear, B.P., Chen, A., 2021. Prenatal exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and neurobehavior in US children through 8 years of age: The HOME study. *Environ Res* 195, 110825.

Wang, H., Yang, J., Du, H., Xu, L., Liu, S., Yi, J., Qian, X., Chen, Y., Jiang, Q., He, G., 2018. Perfluoroalkyl substances, glucose homeostasis, and gestational diabetes mellitus in Chinese pregnant women: A repeat measurement-based prospective study. *Environ Int* 114, 12-20.

Wang, J., Li, Y., Liu, Y., Zhang, H., Dai, J., 2010. Disturbance of perfluorooctanoic acid on development and behavior in *Drosophila* larvae. *Environ Toxicol Chem* 29, 2117-2122.

Wang, L., Wang, Y., Liang, Y., Li, J., Liu, Y., Zhang, J., Zhang, A., Fu, J., Jiang, G., 2014. PFOS induced lipid metabolism disturbances in BALB/c mice through inhibition of low density lipoproteins excretion. *Sci Rep* 4, 4582.

Wang, M., Chen, J., Lin, K., Chen, Y., Hu, W., Tanguay, R.L., Huang, C., Dong, Q., 2011. Chronic *zebrafish* PFOS exposure alters sex ratio and maternal related effects in F1 offspring. *Environ Toxicol Chem* 30, 2073-2080.

Wang, P., Liu, D., Yan, S., Cui, J., Liang, Y., Ren, S., 2022. Adverse Effects of Perfluorooctane Sulfonate on the Liver and Relevant Mechanisms. *Toxics* 10.

Xie, Z., Tan, J., Fang, G., Ji, H., Miao, M., Tian, Y., Hu, H., Cao, W., Liang, H., Yuan, W., 2022. Associations between prenatal exposure to perfluoroalkyl substances and neurobehavioral development in early childhood: A prospective cohort study. *Ecotoxicol*

Environ Saf 241, 113818.

Yang, G., Zhou, Z., Cen, Y., Gui, X., Zeng, Q., Ao, Y., Li, Q., Wang, S., Li, J., Zhang, A., 2015. Death receptor and mitochondria-mediated hepatocyte apoptosis underlies liver dysfunction in rats exposed to organic pollutants from drinking water. *Drug Des Devel Ther* 9, 4719-4733.

Yao, H., Fu, Y., Weng, X., Zeng, Z., Tan, Y., Wu, X., Zeng, H., Yang, Z., Li, Y., Liang, H., Wu, Y., Wen, L., Jing, C., 2023. The Association between Prenatal Per- and Polyfluoroalkyl Substances Exposure and Neurobehavioral Problems in Offspring: A Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health* 20. 1668.

Zeng, Z., Song, B., Xiao, R., Zeng, G., Gong, J., Chen, M., Xu, P., Zhang, P., Shen, M., Yi, H., 2019. Assessing the human health risks of perfluorooctane sulfonate by in vivo and in vitro studies. *Environ Int* 126, 598-610.

Zhao, Z., Xie, Z., Moller, A., Sturm, R., Tang, J., Zhang, G., Ebinghaus, R., 2012. Distribution and long-range transport of polyfluoroalkyl substances in the Arctic, Atlantic Ocean and Antarctic coast. *Environ Pollut* 170, 71-77.

과불화옥탄술폰산의 저용량 장기노출에 따른 초파리의 행동 변화

잔류성 유기오염 물질(Persistent Organic Pollutants, POP's)란 자연환경 분해가 어렵고, 지속성이 강하며 생태계 먹이사슬을 통하여 유기체에 축적으로 인간에게 독성을 유발하는 화합물을 뜻한다. PFOS(Perfluorooctanesulfonic acid)는 PFC(polyfluorinated compounds) 중 하나의 종류로써 환경에서 유비쿼터스적으로 나타나며 지속성 인위적인 오염물질이다.

역학 조사에서는 PFOS를 포함한 PFC에 대한 노출은 공간 학습 및 기억력 감소, 주의력결핍/과잉행동 장애와 같은 신경 장애 사이에 유의적인 상관관계가 있음을 확인되었다. 현재까지 PFOS 및 PFC가 신경학적 장애 유발 과정은 잘 알려지지 않았지만, 인간에서는 모유수유 신생아를 포함한 식이 섭취를 통해 노출되어진다고 연구에서 제안하였다. 본 연구의 목적은 초파리(*Drosophila melanogaster*) 모델의 유충기간 동안 저용량 PFOS에 장기간 노출된 성충 모델을 통하여 수명, 체성분, 수면 및 행동 변화를 확인하는 것이다.

PFOS 노출의 용량 의존적 영향을 조사하기 위해 수명, 신체 상태의 정량화 및 분석을 수행하였다. PFOS에 대한 용량 의존적 노출에 따른 총 운동활동, 수면 도입시간, 수면의 지속시간 변화를 조사하기 위해 초파리 행동 분석을 적용

하였다. 또한 PFOS에 노출된 초파리의 이동거리, 속도, 이동성 등 행동 특성을 확인하기 위해 video tracking 분석을 실시하였다.

PFOS에 노출된 모든 그룹은 정상대조군에 비해 수명이 유의하게 감소하였다($p < 0.01$ 와 $p < 0.001$, 각각). 체성분 분석에서 PFOS 2nM 및 20nM 노출군은 정상대조군에 비해 Protein 함량($p < 0.01$)이 유의하게 감소하고, Triglyceride 함량($p < 0.01$)은 유의하게 증가하였다.

수면 패턴 분석에서 PFOS 2nM 및 20 nM 노출군에서는 밤시간대 움직임은 유의하게 증가($p < 0.01$), 총 수면 시간($p < 0.01$ 와 $p < 0.05$, 각각)은 유의하게 감소하였다. Video tracking 분석 결과, PFOS 20nM 노출군은 정상대조군에 비해 이동거리($p < 0.01$), 속도($p < 0.01$), 이동성($p < 0.001$)에서 유의하게 증가하였다.

결과적으로, *Drosophila melanogaster*의 유충 단계에서 PFOS 저용량 장기 노출은 수명 단축, 체성분 변화, 수면 시간 및 행동 요인의 변화를 유도함을 확인하였다. 이 연구는 일주기 리듬과 행동요인에 대한 유충 단계에서 PFOS 노출의 신경 독성 효과를 이해하기 위한 행동, 생화학적 및 생물학적 증거를 제공한다.