

S-2 Nitroso 화합물에 대한 발암억제 기전 연구

이 병 훈

한림대학교 환경·생명과학연구소

1956년, Magee와 Barnes에 의해 N-nitrosodimethylamine의 발암성에 대해 처음 밝혀진 이후¹⁾ nitroso 화합물 (N-nitroso compounds; NOC)에 관한 연구는 매우 활발히 진행되어, 세계적으로 매년 약 1500편 이상의 논문이 발표되고 있다. 이들 연구는 주로 환경 중에서 NOC의 생성 및 분포, NOC의 화학적·생화학적 특성, NOC의 대사 및 생물학적 활성 등에 관한 내용이 주를 이루고 있는데, 이와 같이 NOC의 연구가 급격히 증가한 이유는 이들이 우리의 환경 중에 널리 존재하며, *in vivo*에서도 쉽게 형성되고, 발암성이 매우 강력하기 때문이며 또한, 화학적으로 합성이 용이해 쉽게 구할 수 있다는 점도 NOC 연구를 촉진시킨 원인 중의 하나이다. 지금까지 보고된 NOC의 발암성에 대한 연구결과들을 종합해 보면 다음과 같다²⁾:

- 300여종 이상의 NOC를 시험해본 결과 90% 이상이 발암성 물질로 밝혀졌다.
- NOC의 고유한 특성으로 발암작용시 장기특이성이 보고되었다.
- 주된 발암장기는 간, 신장, 식도, 방광등이며 이는 주로 NOC의 구조에 따라 결정된다.
- NOC는 물고기에서 유인원까지 약 39종의 동물에서 암을 일으키며 NOC에 저항성이 있는 동물 종은 아직 보고되지 않았다.
- 암을 일으키는 용량은 매우 낮으며 1 mg/kg, 1회 투여로도 암을 유발한다.

환경오염에 의한 암의 발생은 급속도로 증가하고, 1970년대 이후 암치료의 성공률이 거의 증가하지 않고 있는 상황에서 암의 발생과 이로 인한 사망률을 억제할 수 있는 최선의 방법은 이를 예방하는 것으로 현재 전세계적으로 관심의 대상이 되고있는 분야는 chemoprevention이다. Chemoprevention이란 「화합물을 이용해 발암원이 유발하는 암의 발생을 억제하는 것」으로 지금까지 보고된 발암억제제는 천연물질부터 합성화합물까지, 그리고 암의 초기화를 억제하는 물질부터 promotion 및 세포의 분화에 관여하여 암의 진행을 억제하는 물질에 이르기까지 매우 다양한 형태의 화합물들을 포함한다.

Aldehyde dehydrogenase 억제제로 알려진 Disulfiram (DSF)은 오래 전부터 알콜중독자의 치료에 사용되던 약물로 NOC, polycyclic aromatic hydrocarbon등 여러 종류의 화학적발암원이 유발하는 암의 발생을 최고 100%까지 억제한다. DSF의 대사경로에 대

해서는 잘 알려져 있고 각각의 대사체들도 모두 분리되어 이들에 대한 효소활성 억제능 혹은 발암억제능에 대해 많은 연구결과가 발표되어 있다. 1965년 Stroemme는 DSF가 체내에서 단백질의 -SH 기와 반응해 mixed disulfide (MD)를 형성한다는 보고를 하였으나³⁾ 이와 같은 종류의 대사체는 지금까지 확인되거나 분리되지 않았다. 연자 등은 이 대사경로에 착안하여 몇몇 MD의 모델화합물 및 이들과 구조적으로 연관성이 있는 sugar-linked dithiocarbamates (SDTCs)를 합성하여 이들이 환경에 존재하는 NOC의 대사활성 및 발암에 관련된 독성학적 지표에 미치는 영향을 검색하였으며 이들이 NOC에 의한 발암을 억제하는 기전에 관해 연구하였다.

MD의 합성에서 DSF와의 반응 상대로는 체내에 존재하는 중요한 thiol 화합물인 N-acetylcysteine과 glutathione을, SDTC의 경우에는 glucose, lactose, cellobiose를 sugar donor로 선택하였다. 발암원으로는 여러 종류의 NOC 중에서 환경에 많이 존재하는 N-nitrosodiethylamine (NDEA)와 담배에 특이적으로 함유되어 있는 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)와 N-nitrosornicotine (NNN)을 본 연구에 사용하였으며 이들은 모두 체내에서 효소에 의한 대사활성화를 받아야만 발암성을 나타내는 procarcinogen이다. MD와 SDTC는 NDEA의 대사활성화를 억제하여 이들을 NDEA와 동시에 투여했을 경우 NDEA가 산화적 대사를 받아 호흡기를 통해 CO₂로 배설되는 양을 줄여주었고 대사되지 않은 상태로 뇨를 통해 배설되는 NDEA의 양을 증가시켰다. 일차배양한 흰쥐 간세포에서 NDEA로 유도된 DNA single strand breaks는 MD 및 SDTC의 전처리로 인해 완전히 억제되어 이들이 DNA 손상을 억제할 수 있음을 확인하였다. NDEA의 대사활성과 해독에 관련된 일련의 생화학적 지표를 분석해본 결과 NDEA의 대사와 DNA 손상을 억제하는 MD의 효과는 주로 CYP2E1의 억제에 기인하며, SDTC의 경우 이 계열의 다른 유도체들과는 달리 glutathione S-transferase, glutathione reductase 등과 같은 해독관련효소의 활성을 매우 증가시키는 것으로 밝혀졌다. 또한, 이들의 발암억제 가능성을 유전독성 지표를 이용한 *in vitro* 및 *in vivo* 시험을 통해 검색한 결과 이들은 모두 NDEA가 유발하는 유전독성을 억제할 수 있는 성질을 갖고있음을 확인하였다.

담배에 특이적으로 존재하는 NOC중에서 발암성이 보고된 NNK와 NNN에 의한 유전독성 시험에서 MD와 SDTC는 모두 NNK에 의한 돌연변이원성은 강력히 억제하였으나 NNN에 대한 항돌연변이원성은 나타내지 않았고 이 결과는 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 통해 확인되었다. NNK와 NNN은 모두 2'-위치의 α -hydroxylation에 의해 pyridyloxobutylating species를 형성하여 이것이 DNA와 반응하는 활성본체로 작용한다. 한편, NNK의 methylene group이 α -hydroxylation 되면 carbonium ion같은 methylating

species를 형성하는데 이는 O⁶- 및 N⁷-methylguanine adduct를 만들어 NNK의 발암화를 초기화시킨다⁴⁾. 이상의 대사경로를 고려할 때 본 연구에 이용된 DDTC 유도체들은 NNK의 산화적 대사경로만을 선택적으로 차단하여 NNK에 대한 항돌연변이 효과를 나타내는 것으로 추측된다. NNK와 NNN의 초기대사에는 CYP1A1, 1A2, 2A1, 2A6, 3A4, 2B1, 2B2, 2C11, 2D6 및 2E1등 여러 종류의 효소가 복합적으로 작용하는데⁵⁾ 이들은 대부분 NNK 및 NNN의 대사에 공통적으로 관여하고 NNK의 α -hydroxylation 에만 선택적으로 작용하는 유일한 효소는 CYP2D6라고 알려져 있다⁶⁾. 따라서 DDTC 유도체들이 NNK 및 NNN의 유전독성을 감소시키는 기전은 이와 같은 P450 isozyme의 활성의 선택적인 저해로 추정되며 이에 대한 연구는 현재 진행중에 있다. 이와 같이 특정경로만을 선택적으로 차단하는 물질을 찾는 것은 발암억제제의 개발에 있어서 매우 중요한 요소로 생각되며, 이 분야의 연구를 효과적으로 수행하기 위해 본 연구실에서는 QSAR을 이용한 후보물질 검색이 현재 진행중에 있다.

참고문헌

- 1) Magee, P.H. and Barnes, J.M.: *Brit. J. Cancer*, **10**, 114 (1956)
- 2) Preussmann, R. and Wiessler, M. : *Trend. Pharmacol. Sci.*, **8**, 185-189 (1987)
- 3) Stroemme, J.H.: *Biochem. Pharmacol.*, **14**, 381-391 (1965)
- 4) Hecht, S.S.: *Crit. Rev. Toxicol.*, **26**, 163-181 (1996)
- 5) Smith, T.J., Guo, Z., Gonzalez, F.J., Guengerich, F.P., Stoner, G.D. and Yang, C.S.: *Cancer Res.*, **52**, 1757-1763 (1992)
- 6) Crespi, C.L., Penman, B.W., Gelboin, H.V. and Gonzalez, F.J.: *Carcinogenesis*, **12**, 1197-1201 (1991)