

번호 I-1

제 목	국문	유기수은의 세포독성에 대한 아연의 방어효과와 기전에 관한 연구			
	영문	Protective Effects and Mechanism of Protection by Zinc against Cytotoxicity of Methyl Mercury Chloride			
저 자 및 소속	국문	고대하, 엄정호, 김남송* 전북대학교 의과대학 예방의학교실, 원광대학교 의과대학 예방의학교실*			
	영문	Koh Dai Ha, Youm Jung Ho, Kim Nam Song* Department of Preventive Medicine and Public Health, Chonbuk National University Medical School, Department of Preventive Medicine, Wonkwang University Medical School*			
분 야	보건관리( )	발 표 자	일반회원(○)	발표 형식	구 연( )
	역 학( )		전 공 의( )		포스터(○)
진행 상황	연구 완료(○), 연구중( ) → 완료 예정 시기 :       년       월				
<p>1. 연구 목적</p> <p>수은의 세포독성에 대한 생체내 방어기능은 thiol인 GSH에 의해 이루어지고 조직이나 세포내의 GSH 농도에 따라 수은의 세포내 유입 및 세포독성이 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다. 생체내 필수미량원소인 아연은 수은이나 카드뮴과 같은 중금속들의 세포독성에 대하여 방어효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 수은의 세포독성에 대한 아연의 방어기전은 아연이 세포내에서 GSH의 대사 과정에 관련되어 방어효과를 나타낸다고 보고되어 있으나 다른 여러 가지 방어기전이 제시되고 있어 현재 명확하게 밝혀져 있지 않고 있다. 또한 최근의 연구결과에서 필수미량원소인 셀레늄의 수은에 대한 방어기전이 GSH에 관련된 기전보다는 셀레늄이 수은과 반응하여 Hg-Se complex를 형성하여 방어효과 및 수은의 세포내 유입을 방해한다고 보고되면서 수은의 세포독성에 대한 아연의 방어기전에 대하여 많은 논란이 되고 있다. 본 연구는 EMT-6 세포를 이용하여 유기수은의 세포독성에 대한 아연의 방어효과 및 기전을 알아보기 위하여 세포의 NO와 ATP 생성량을 독성지표로 이용하였고 세포 내 GSH 농도와 세포내로 유입된 수은의 양을 측정하여 아연의 방어기전을 밝히고자 하였다.</p> <p>2. 연구방법</p> <p>본 연구에서 사용한 EMT-6 세포는 세포성 면역세포인 macrophage와 같이 IL-1, INF-<math>\gamma</math> 등의 cytokine의 자극으로 NO를 생성하는 특성을 가지고 있어 일반적으로 면역세포에 대한 수은 및 중금속의 독성검정을 위한 실험모델로 이용되고 있다. EMT-6세포에 유기수은(CH<sub>3</sub>HgCl) 및 아연(ZnCl<sub>2</sub>)을 단독 첨가한 배양조건과 아연과 유기수은의 동시첨가 및 아연, 유기수은과 BSO(buthioneine sulfoximine)을 동시첨가한 배양조건에서 48시간 배양한 후 세포의 NO, ATP 및 GSH 생성량을 측정하여 유기수은의 세포독성 효과 및 아연의 방어효과를 확인하고자 하였다. 또한, 아연으로 24시간 배양하여 전처리 한 후 유기수은을 단독 첨가하거나 유기수은과 BSO를 동시첨가하여 48시간 배양한 후 NO, ATP 생성량을 측정하고 세포내 유입된 유기수은의 양을 측정하여 수은의 세포독성에 대한 아연의 방어기전을 제시하고자 하였다. NO는 반감기가 극히 짧아 생성량을 직접 측정하기가 불가능하기 때문에 대신 그 대사물인 nitrite(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)를 측정하여 NO의 생성량을 정량하였다. ATP는 luciferase와 ATP의 반응에 따른 발광정도를 측정하여 정량하였고, 세포내 GSH의 농도는 GSH assay kit (Calbiochem, USA)를 이용하여 측정하였다. 유기수은의 세포내 축적량은 원자흡광광도계를 이용하여 측정하였다.</p>					

### 3. 연구 결과

유기수은을 단독 첨가한 배양조건에서  $\text{NO}_2^-$ 와 ATP생성량은 대조군에 비해 용량의존적으로 현저히 감소하였다. 아연은 EMT-6 세포의  $\text{NO}_2^-$ 의 생성량에 영향을 주지 않았고, ATP와 GSH의 생성량은 첨가한 양에 따라 용량의존적으로 증가하는 것으로 나타났다. 유기수은과 아연을 동시에 첨가한 배양조건에서는  $\text{NO}_2^-$  및 ATP의 생성량이 유기수은의 농도가 증가함에도 불구하고 대조군과 비슷한 수준으로 유지되어 아연이 유기수은의 세포독성으로부터 방어효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 유기수은, 아연과 세포 내 GSH의 합성을 방해하는 BSO를 동시에 첨가한 배양조건에서 세포의  $\text{NO}_2^-$ , ATP 및 GSH의 생성량은 첨가한 유기수은과 BSO의 농도가 증가할수록 용량의존적으로 현저히 감소하였다. 아연을 단독 첨가한 배양조건에서 24시간 배양하여 전처리 한 실험에서 유기수은을 단독첨가한 실험군과 유기수은과 BSO를 동시첨가한 실험군을 아연을 전처리 하지 않은 대조군과 비교한 결과, 아연을 전 처리한 후 유기수은을 단독 첨가한 실험군은 대조군이 유기수은 농도가 증가함에 따라 용량의존적으로  $\text{NO}_2^-$  및 ATP의 생성량의 감소하는데 반해 유기수은 첨가량에 관계없이 일정하게 유지되었고, 아연을 전처리한 후 유기수은과 BSO를 첨가한 실험군은 대조군과 유사한 형태로  $\text{NO}_2^-$  및 ATP가 감소하였고 생성량은 대조군보다 더 낮은 것으로 나타났다. 유기수은의 세포내 유입은 아연의 동시 첨가와 아연의 전처리 실험 조건에서 모두 첨가한 아연의 양에 따라 감소하였고 전처리 실험조건이 동시 첨가하였을 때 보다 더 낮게 감소하였다.

### 4. 고 찰

유기수은이 단독 첨가된 배양조건에서 EMT-6세포의 ATP 및 NO 생성량의 감소는 유기수은이 에너지 대사에 관여하는 효소의 활성 저해 및 세포내 대사과정이 손상을 받아 NO의 생성에 필요한 에너지의 공급 및 세포의 대사 활동이 억제되어 나타나는 것으로 수은에 의한 대식세포의 탐식능의 저하는 이러한 기전에 의해 나타난 것으로 사료된다. 아연은 EMT-6 세포의  $\text{NO}_2^-$ 의 생성량에 영향을 주지 않았고, ATP와 GSH의 생성량은 증가하는 것으로 나타났으며 이 결과는 아연이 세포 내 GSH농도를 증가시킨다는 Liu 등(1992)의 연구결과와 일치하는 것으로 아연이 세포내 GSH 대사과정에 관련되어 있음을 알 수 있었다. 유기수은과 아연을 동시에 첨가한 배양조건에서는  $\text{NO}_2^-$  및 ATP의 생성량이 유기수은의 농도가 증가함에도 불구하고 감소하지 않고 일정하게 유지되어 아연이 유기수은의 세포독성으로부터 방어효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었고, 유기수은, 아연과 세포 내 GSH의 합성을 방해하는 BSO를 동시에 첨가한 배양조건에서는  $\text{NO}_2^-$ , ATP 및 GSH의 농도가 감소하는 것으로 나타났는데, 이러한 결과는 유기수은의 세포독성에 대한 아연의 방어기전이 GSH와 관련이 되어 있음을 시사해 주는 것으로 이러한 아연의 방어기전을 확인하고자 아연의 전처리 실험을 수행하였다. 아연의 전처리는 유기수은의 첨가량에 관계없이  $\text{NO}_2^-$  및 ATP의 농도가 일정하게 유지되었고, 아연을 전처리 후 유기수은과 BSO를 첨가하면  $\text{NO}_2^-$  및 ATP가 감소하였는데 이러한 실험 결과는 아연의 전처리가 EMT-6 세포의 ATP 및 GSH농도를 증가시켜 첨가한 유기수은의 세포독성으로부터 방어효과를 나타낸 것으로 사료되며 수은의 세포독성에 대한 아연의 방어기전은 아연이 세포의 GSH 생성량을 증가시켜 일어나는 것으로 사료된다. 유기수은의 세포내 유입은 아연의 동시 첨가와 아연의 전처리 실험 조건에서 모두 첨가한 아연의 양에 따라 감소하였고 전처리 실험조건이 동시 첨가하였을 때 보다 더 낮게 감소하였다. 유기수은의 세포내 유입을 방해하는 아연의 기전은 수은과 반응하여 Hg-Se complex를 형성하는 셀레늄의 방어기전처럼 직접 유기수은과 결합하여 세포내 유입을 방해하는 것이 아니고 세포의 GSH의 생성을 증가시켜 유기수은의 세포내 유입 및 세포독성으로부터 세포를 보호하고 있다는 것이라 사료된다.