

IV-B-3					
제목	국문	벤젠에 노출된 흰쥐의 T 와 B 림프구의 DNA 손상			
	영문	DNA damage in T- and B-lymphocytes in rats exposed to benzene			
저자 및 소속	국문	오은하 ^{1,2} , 이도영 ¹ , 임호섭 ¹ , 심일섭 ¹ , 홍현호 ¹ , 조덕진 ¹ , 설동근 ¹ , 이은일 ¹ 고려대학교 의과대학 예방의학 교실 및 의과학연구원 환경의학연구소 ¹ , 고려대학교 보건대학원 ²			
	영문	Eunha Oh ^{1,2} , Doyoung Lee ¹ , Hosub Im ¹ , Ilsub Sim ¹ , Hyunho Hong ¹ , Dukjin Jo ¹ , Donggeun Sul ¹ , Eunil Lee ¹ <i>Department of Preventive Medicine, School of Medicine and Institute for Environmental Health, Medical Science Research Center, Korea University¹, School of Public Health, Korea University²</i>			
분야	환경및산업보건 [독성-유기용제]	발표자	오은하 [일반회원]	발표형식	구연
진행상황	연구완료				
<p>1. 목적</p> <p>벤젠은 유전독성 영향을 갖고있으며 특히 벤젠의 물질대사 물질중 hydroquinone 과 benzoquinone, catechol 들이 높은 영향을 보여주고 있다. 유전독성 면에서는 동물이나 박테리아에 유해물질을 직접 투여하여 그 독성을 검사하는 소핵 검사나 Ames test 가 수행되어져 왔으며, 사람을 대상으로 한 방법에서는 염색체 이상, 자매염색체 교환등이 사용되어져왔다. 근래에는 Comet assay 라는 단세포 전기영동법(single cell gel electrophoresis)을 통하여 DNA 손상을 정량화 하는 연구가 진행되어지고 있다. 이러한 comet assay 방법은 더욱 명확하고 반응도가 높은 DNA single strand break 손상 측정을 보여주었으며 벤젠의 경우 몇몇의 연구들이 이 방법을 통하여 림프구에서 이루어져왔다. 우리 연구실에서는 인간을 대상으로 T 와 B 림프구및 그리고 과립구에서의 벤젠에 의한 DNA 손상을 측정하여 B 림프구의 DNA 손상이 벤젠 노출을 잘 반영한다는 결과를 얻어, 장기간 고농도의 벤젠 노출에서 어떤 양상을 보이는지 조사하기 위해, 동물실험을 수행하게 되었다. 즉, 흰쥐에서의 T 림프구와 B 림프구가 어떻게 각기 다른 벤젠 노출 농도와 노출기간의 증가에 얼마만큼의 DNA 손상변화를 주는지 알아보며 두 종류 림프구의 벤젠 특이성을 찾아내는데 두고있다.</p> <p>2. 방법</p> <p>이 연구는 barrier system 의 동물실에서 1주일간 순화시킨 후 건강하고 발육상태가 양호한 4 주령의 수컷 Sprague-Dawley rats(100±20g)들을 실험대상으로 사용하였고, 이들 rat 들은 벤젠 노출 농도(0ppm;control, 100ppm, 200ppm, 400ppm)와 노출 기간(1,2,4 주)에 따라 4 개 노출농도, 3 개 기간 control 1 개군을 포함 총 10 개 군으로, 한 군당 4-6 마리의 쥐를 가지고 실험되어졌다. 흰쥐들은 각각의 벤젠농도로 흡입 챔버 내에서 1일 6시간 주 5일 4주간 동안 노출이 되어졌다. 1, 2, 4 주 기간동안 노출되어진 흰쥐를 halothane 으로 마취 후 heparin 처리된 vacutainer 로 혈액을 채취하여 Ficoll hypaque 용액으로 원심분리후 림프구를 얻은후 MACS(Magnetic Cell Sorting)을 이용하여 T 림프구와 B 림프구를 CD4 와 CD45R 에 의하여 분리 정제한 후 comet assay 를 통하여 DNA 손상을 측정하였다.</p> <p>3. 결과</p> <p>벤젠 100ppm, 200ppm 그리고 400ppm 에 1주, 2주 그리고 4주 노출된 쥐와 대조군의</p>					

뮤코닉 산은 대조군에서 통계적으로 유의한 차이를 보여주었다. 두 종류의 혈액 세포에서 모든 벤젠노출 농도와 기간에 상관없이 노출군과 대조군이 통계적으로 유의하게 차이를 보여주었으며 B 림프구의 경우 1 주 노출군의 Olive tail moment(TM)가 100ppm, 200ppm 그리고 400ppm 에서 각기 2.155 ± 0.143 , 1.785 ± 0.470 , 2.076 ± 0.223 이었다. 2 주 경우 노출군은 100ppm, 200ppm 그리고 400ppm 에서 1.640 ± 0.032 , 1.730 ± 0.034 , 1.722 ± 0.077 의 값을 보여주었다. 4 주 노출군은 100ppm, 200ppm 그리고 400ppm 에서 2.016 ± 0.106 , 2.702 ± 0.274 , 1.861 ± 0.450 이었다. 대조군의 TM 은 1.579 ± 0.206 이었다.

T 림프구의 경우 1 주 노출군의 Olive tail moment(TM)가 100ppm, 200ppm 그리고 400ppm 에서 각기 1.536 ± 0.165 , 1.277 ± 0.142 , 1.713 ± 0.085 이었다. 2 주 경우 노출군은 100ppm, 200ppm 그리고 400ppm 에서 1.664 ± 0.196 , 1.939 ± 0.261 , 1.507 ± 0.116 의 값을 보여주었다. 4 주 노출군은 100ppm, 200ppm 그리고 400ppm 에서 1.999 ± 0.363 , 2.717 ± 0.514 , 4.351 ± 1.510 이었다. 대조군의 TM 은 1.265 ± 0.187 이었다.

4. 고찰

벤젠과 벤젠의 물질대사 물질들은 생체내 분자들인 단백질들과 DNA 와의 공유결합으로 인하여 벤젠독성기전과 발암현상을 일으키는 것으로 알려져 왔으며 특히 hydrogen peroxide 를 통한 산화적인 DNA 손상을 야기 시킨다. 그동안 벤젠과 그의 대사물질들은 자매염색체교환(SCEs), 미소핵(micronuclei), 염색체이상(chromosomal aberration), comet assay 등의 연구에서 상당한 DNA 손상을 보여주었으며 특히 comet assay 경우 낮은 농도(10ppm 이하)에서의 DNA 손상도 측정 가능케 하여주었다. 그동안 우리 연구실에서는 comet assay 를 이용한 최근 벤젠에 노출된 근로자의 림프구 DNA 손상 연구로부터 T 와 B 림프구 세포 그리고 과립구 세포에서의 결과들이 벤젠 특이성을 얻어내었으며 T 림프구보다는 B 림프구에서 상당한 DNA 손상을 발견하게 되었다. 이러한 결과는 혈액 세포들의 다른 세포 생활주기 및 새로운 혈액 세포를 근본적으로 공급하는 골수세포내의 DNA 손상으로 기인 한 것이 아닌가 추정된다. 그러나 다양한 벤젠 농도와 다른 노출 기간을 갖는 이번 쥐를 통한 연구에서 B 림프구의 경우 일정한 DNA 손상을 보여주는 반면에 T 림프구의 경우는 지속적인 DNA 손상의 증가를 나타내었다. B 림프구의 life cycle 이 4-5 일이므로 매주 새로이 형성이 되어지는 B 림프구의 교체로 인한 일정한 DNA 손상을 유지하며 골수 세포 자체내의 DNA 손상으로부터 인한 B 림프구의 DNA 손상의 증가 현상은 보여주지는 않았다. 쥐에 있어서 벤젠의 대사물질들이 골수 세포에 많은 영향을 미치지 않는다는 보고가 있었으며 성숙과정에 있는 쥐에 있어서 외부물질로 인한 DNA 손상은 매우 빠르게 회복되어진다는 사실로 미루어 볼 때 짧은 기간에 노출되어진 쥐의 경우 일부분 손상되어진 DNA 가 골수세포로부터 성숙되어지는 B 림프구에 이르기까지 매우 빠른 회복을 보여 일정한 DNA 손상을 유지하는 반면 T 림프구는 DNA 손상의 회복이 이미 성숙된 세포에서 느리게 일어나므로 지속적인 DNA 손상의 증가를 도출하게 된다고 사료된다.