

독성물질			번호: III - D - i - 5		
제 목	국문	PAHs에 노출된 mouse에서의 T 와 B 림프구의 DNA손상			
	영문	DNA damage in T- and B-lymphocytes in mice exposed to PAHs			
저 자 및 소 속	국문	임호섭 <sup>1)</sup> , 오은하 <sup>1,2)</sup> , 설동근 <sup>1)</sup> , 이은일 <sup>1,2)</sup> 1) 고려대학교 의과대학 예방의학 교실 및 의과학연구원 환경의학연 구소, 2) 고려대학교 대학원 보건학과			
	영문	Hosub Im <sup>1,2)</sup> , Eunha Oh <sup>2)</sup> , Donggeun Sul <sup>1)</sup> , Eunil <sup>1,2)</sup> 1) Department of Preventive Medicine & Institute for Environmental Health, College of Medicine, Korea University 2) Department of Public Health, Graduate School, Korea University			
분 야	환경 및 산업보건 독성물질	발 표 자	임호섭	발표형식	구 연
			일반회원		
진행상황	연구중 → 완료예정시기: 2002년 10월				
<p>1. 연구목적</p> <p>다핵 방향족탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons or Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, PAHs)는 유해물질의 열분해 과정의 불완전 연소에 의해 생성되어지는 물질로서, 극성이 없고 지방에 용해되어지기도하며 피부, 폐 또는 소화관을 통하여 흡수되어진다. 이러한 PAHs는 2개 이상의 벤젠고리를 갖는 물질의 복합체로써 3-4개의 고리로 된 물질이 주가 되는 반면, 5-6개의 고리를 가진 PAHs가 주로 발암성을 띄게 된다(NRC, 1993). 대표적인 PAHs종류는 pyrene, benzo(a)pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene 등 17종이 있다. 외부로부터 신체로 흡수되어지는 PAHs는 모든 조직으로 분포되는데 특히 지방농도가 높은 기관에 집중되어 조직에 독성을 일으키고 신장, 간에 변성변화를 가져오고 특히 비장에서 PAHs에 의한 영향이 예민하게 나타난다. 근래에는 Comet assay라는 단세포 전기영동법(single cell gel electrophoresis)을 통하여 DNA손상을 정량화하는 연구가 진행되어지고 있다. 이러한 comet assay 방법은 더욱 명확하고 반응도가 높은 DNA single strand break 손상 측정을 보여주고 있다. 본 연구실에서는 사람을 대상으로 T와 B 림프구에서의 PAHs에 의한 DNA손상을 측정하여 B 림프구의 DNA손상이 PAHs 노출을 잘 반영한다는 결과를 얻어, 단기간 고농도의 PAHs 노출에서 어떤 양상을 보이는지 조사하기 위해, 동물실험을 수행하게 되었다. 즉, mouse에서의 T 림프구와 B 림프구가 어떻게 각기 다른 PAHs 노출 농도와 노출기간의 증가에 얼마만큼의 조직(liver, spleen, bone marrow)과 림프구에 DNA손상변화를 주는지 알아보고자 하였다.</p> <p>2. 연구방법</p> <p>이 연구는 barrier system의 동물실에서 1주일간 순화시킨 후 건강하고 발육상태가 양호한 수컷 mouse(30±5g)들을 실험대상으로 사용하였다. PAH를 투입하기 위해 PAHs 4종(pyrene, fluoranthene, benzo(a)pyrene, benzo(e)pyrene)과 corn oil로 총량이 200, 400, 800mg/kg에 해당되도록 용액을 조제하였다. PAH 주입은 non curved ball tipped gastric inoculation needle을 이용하여 위에 100μl씩 주입하였다. 이렇게 4일 동안 주입되어진 mouse는 halothane으로 마취 후 heparin</p>					

처리된 vacutainer로 혈액을 채취하여 Ficoll hypaque 용액을 이용 원심분리를 통하여 림프구 분리하였다. 분리된 림프구는 MACS(Magnetic Cell Sorting)방법을 통하여 T 림프구와 B 림프구를 CD19와 CD90인 magnetic bead가 입혀진 monoclonal antibody를 사용하여 분리 정제한 후 comet assay를 실시하였다. 또한 일련의 mesh정제 과정을 통하여 얻어진 간조직, 비장, 골수세포 통하여 DNA손상을 측정하였는데 이중 spleen은 림프구에서 행하여진 MACS 방법을 통하여 spleen T-cell과 B-cell의 DNA의 손상을 측정하였다.

### 3. 연구결과

동물실험에서는 투여 기간이 길수록 DNA손상이 증가되는 것이 혈액과 조직에서 관찰되고 있으며, 혈액세포의 경우와 Spleen에서 T-cell의 손상이 크게 나타남을 보이고 있다.

구 분	Control	200mg/kg	800mg/kg	1600mg/kg	3200mg/kg
	(Mean±SD)	(Mean±SD)	(Mean±SD)	(Mean±SD)	(Mean±SD)
Lymphocyte	1.27±0.13	1.73±0.32	1.95±0.20	1.95±0.08	2.23±0.02
T-cell	1.39±0.24	2.06±0.13	2.27±0.14	2.35±0.49	2.49±0.35
B-cell	1.20±0.11	1.31±0.08	1.77±0.21	1.96±0.14	1.80±0.17
Bone marrow	1.51±0.12	2.33±0.27	2.11±0.20	2.23±0.29	2.23±0.29
Liver	1.73±0.19	2.47±0.75	2.23±0.21	2.41±0.32	2.65±0.36
Spleen(B-cell)	1.52±0.16	1.75±0.22	1.90±0.36	2.42±0.38	2.37±0.73
Spleen(T-cell)	1.46±0.36	1.56±0.20	2.02±0.45	2.02±0.38	3.10±0.58

### 4. 고찰

PAHs는 매우 강한 지용성 물질로써 산화과정을 경유하여 대사되어 epoxide나 phenol로 무독화 된다. 또는 dihydrodiols로 대사된 뒤 일부 epoxide는 diol-epoxide로 산화되기도 한다. 수용성인 PAHs 대사체는 일차적으로 요나 변을 통해 배설되는데 일부분은 지방조직에 축적되는 경향이 있다. 그동안 본 연구실에서는 comet assay를 이용한 최근 PAHs에 노출된 근로자의 T와 B 림프구 그리고 과립구에서의 DNA 손상의 결과들로부터 T림프구보다는 B림프구에서 상당한 DNA 손상을 발견하게 되었다. 이러한 결과는 벤젠에 노출되어진 근로자에서 얻어진 결과와 일치함을 보여주었으며 이러한 결과들은 혈액 세포들의 다른 세포 생활주기 및 새로운 혈액 세포를 근본적으로 공급하는 골수 세포내의 DNA 손상으로 기인 한 것이라 추정된다. 그러나 다양한 PAHs종류와 다른 노출 농도를 갖는 이번 mouse를 통한 연구에서는 B 림프구에서보다는 T 림프구에서 상당한 DNA 손상의 증가를 보여주었다. 이러한 결과는 rats을 이용한 벤젠노출 실험에서의 결과와도 일치함을 보여주는데 장기간 미량 노출되어진 근로자와는 다르게 고농도로 단기간에 노출되어진 동물의 경우 life-span이 4-5일에 미치는 B 림프구는 새로이 형성이 되어지는 B 림프구의 교체로 인한 일정한 DNA 손상을 유지하거나 repair system의 활성화에 기인한 것으로 추정되어진다.

본 실험은 현재 4개의 PAHs 성분들을 함께 노출시켜 성분들이 DNA 손상의 결과를 얻었으나 진행 중인 개별 PAHs들의 연구결과가 새로운 각 종류의 PAHs 화합물의 DNA 손상에 미치는 영향들을 밝혀낼 수 있으리라 사료된다.