

환경 및 산업보건			번호: J - C - 6		
제 목	국문	Comet assay를 통한 쥐 정자의 DNA 손상 평가 및 spermatogenic cells에서의 병리학적 독성영향 평가.			
	영문	Evaluation of DNA damage in sperm by Comet assay and pathological toxicity in spermatogenic cells in rats.			
저 자 및 소 속	국문	지선미 ^{1,2)} , 오은하 ²⁾ , 임호섭 ^{1,2)} , 홍현호 ¹⁾ , 양민호 ²⁾ , 조덕진 ¹⁾ , 설동근 ¹⁾ , 원남희 ³⁾ 이은일 ^{1,2)} 1) 고려대학교 의과대학 예방의학교실 및 환경의학연구소 2) 고려대학교 대학원 보건학과 3) 고려대학교 의과대학 병리학교실			
	영문	Seonmi Jee ^{1,2)} , Eunha Oh ²⁾ , Hosub Im ^{1,2)} , Hyunho Hong ¹⁾ , Min-Ho Yang ²⁾ , Dukjin Jo ¹⁾ , Donggeun Sul ¹⁾ , Nam-Hee Won ³⁾ , Eunil Lee ^{1,2)} 1) Department of Preventive Medicine & Institute for Environmental Health, College of Medicine, Korea University. 2) Department of Public Health, Graduate School, Korea University, 3) Department of Pathology, College of Medicine, Korea University			
분 야	환경 및 산업보건	발 표 자		발표형식	포스터
진행상황	연구중 → 완료예정시기: 2002년 12월				
<p>1. 연구목적</p> <p>PAH, Dioxin 등 내분비 교란물질들 노출에 의한 정자 수 감소, 기형아 출산율 증가 등이 문제가 되고 있는데, 이런 물질에 의한 정자 및 정자발생과정에서 spermatogenic cells의 DNA 손상에 대한 연구보고는 많지 않은 실정이다. 또한 쥐의 정자의 경우 일반적인 comet assay와는 다른 방법으로 평가하여야 하기 때문에 적합한 comet parameter를 정립할 필요가 있다. 따라서 쥐 정자의 DNA 손상 평가를 위한 comet assay 방법을 정립하고, Dioxine에 노출된 쥐에서 정자발생과정의 이상을 평가하고자 하였다.</p> <p>2. 연구방법</p> <p>1) 정자의 DNA 손상 평가 수컷 Sprague-Dewley rat(10주령, 300g)의 ductus deferens에서 정자를 추출하여 H₂O₂ 200µg/ml, 400µg/ml로 10분간 ice상에서 처리하고 DNA 손상을 대조군과 비교하였다. Comet assay는 일반적인 alkaline method가 아닌, neutral Comet assay(Haines et al., 1998)를 적용하였다. 각 농도 당 sperm 100개의 DNA damage를 평가하여 평균을 구하였다. DNA damage 평가지표는 Olive tail moment, Tail length, % tail DNA 3가지 지표를 비교하였다.</p>					

2) Testis의 spermatogenic cell에 대한 Dioxin 과 병리학적 독성반응 평가

수컷 Sprague-Dewley rats(6주령, 108-150g)을 5그룹으로 나누었고, 각 그룹은 4마리로 하였다. 4주간 주 5회씩 Dioxin 0.01 μ g/kg, 0.1 μ g/kg, 1 μ g/kg, 2.5 μ g/kg을 경구 투여하였다. Testis를 H&E염색하여 tubule 30개를 Johnson's method로 점수화하여 평균을 내었다.

3) Testis의 sperm과 spermatogenic cell에 대한 organic solvent인 벤젠과 toluene의 병리학적 독성학적반응평가

수컷 Sprague-Dewley rats (8주령 200g)을 3그룹으로 나누어 각 그룹에 벤젠 100 과 200 ppm, toluene 100과 200ppm, 그리고 benzene과 toluene 혼합물을 100ppm과 200ppm을 6일동안 oil과 함께 경구 투여하였다. Testis를 H&E염색하여 tubule 30개를 Johnson's method로 점수화하여 평균을 내었다.

3. 연구결과

1) H2O2로 처리한 sperm의 DNA 손상정도

각 농도별 평균값을 비교한 결과, olive tail moment값은 대조군이 8.58 \pm 5.13, H2O2 200 μ g/ml군이 10.32 \pm 5.18, 400 μ g/ml군이 10.98 \pm 6.02이었으며, tail length는 각각 32.78 \pm 16.50, 36.31 \pm 17.85, 36.18 \pm 18.58이었고, %tail DNA는 각각 74.65 \pm 13.14, 68.64 \pm 14.30, 67.81 \pm 17.18 였다. 세가지 parameter모두 대조군과 H2O2투여군 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 있었으나, 200 μ g/ml군과 400 μ g/ml군 사이는 유의한 차이가 없었다.

2) dioxin에 노출에 의한 정자 생성 평가

Spermatogenesis의 일반 정상 수치는 평균 9.38이고, 적어도 8.9여야 한다. Dioxin 0.01 μ g/kg의 경우 9.62 \pm 0.04, 0.1 μ g/kg은 9.44 \pm 0.15, 1 μ g/kg은 9.36 \pm 0.19, 2.5 μ g/kg는 9.29 \pm 0.29이었으며, 대조군은 9.31 \pm 0.25였다. 모두 정상 수준이내였으며, 농도 증가에 따른 정자 생성 과정의 이상은 보여주지 않았다.

4. 고찰

정자의 DNA손상 평가시 alkaline method는 DNA손상을 과대평가하기 때문에 neutral method를 권하고 있다. 또한 정자의 형태가 일반 세포의 핵과 달리 타원형이므로, comet assay의 적용을 위해서는 사전 평가방법의 정립이 필요하다. tail parameter에 따른 차이는 보이지 않았지만, olive tail moment값이 일반 세포에 비해 4-5배 이상으로 크게 나왔다. 또한 H2O2농도에 따라 손상 증가가 일정하지 않아 지속적인 연구가 필요한 실정이다. 조직학적 검사를 통한 정자발생과정의 이상 평가는 현재 진행중에 있으나 구강내 Dioxin의 주입 실험은 spermatogenic cell들에 이상을 나타내주지는 못하였다. 유기용매의 경우 대조군에 비하여 현격한 spermatogenic cell들의 이상을 보여주고있는데 계속 되어지는 연구의 결과를 통하여 더많은 정보를 얻을 수가 있으리라 사료된다.