

抗癌劑가 培養淋巴球의 細胞分裂週期 및 姉妹染色分體交換에 미치는 影響

전북대학교 의과대학 예방의학교실

황인담 · 기노석 · 박원길 · 김영오 · 이정상

= Abstract =

Effects of Anticancer Agents on Cell Cycle Kinetics and Sister Chromatid Exchanges in Cultured Human Lymphocytes

In-Dam Hwang, No-Suk Ki, Won-Kihl Park, Young-Oh Kim and Jeong-Sang Lee

Department of Preventive Medicine and Public Health, College of Medicine Chonbuk National University

Sister chromatid exchanges (SCEs) observed by means of bromodeoxyuridine substitution and fluorescence plus Giemsa (FPG) technique were proposed as a sensitive and quantitative assay for mutagenicity and cytotoxicity in short-term cultures of phytohaemagglutinin (PHA)-stimulated human lymphocytes.

Therefore, this study was carried out to investigate the relation between anticancer agents and cytotoxic effects. Chromosomal analysis was performed on metaphase cells that had divided one, two, or three or more times after treatment for SCEs, mitotic indices (MI) and cell cycle kinetics by FPG technique.

The results indicate that anticancer agents led to a dose dependent increase in SCE frequency except methotrexate. But, highly inhibited mitotic indices and delayed cell cycle kinetics were observed except for cyclophosphamide.

The author suggest that the difference of SCE frequency is due to the differences in the cytotoxic action of anticancer agents, but although the induction of SCEs has a correlation with cell cycle delay, in some cases the induction of SCEs is not always related to cell cycle delay because of different cytotoxic action of anticancer agents.

I. 서 론

암치료용으로 개발된 항암제가 본래의 항암작용 이외에 염색체이상(Cohen & Shaw, 1964; Shaw, 1970; Stevenson & Patel, 1973; Schinzel & Schmid, 1976), 자매염색분체교환(SCE)(Latt, 1974; Perry & Evans, 1975; Raposa, 1978; Waalkens et al, 1984) 및 새로운 암종 유발(Raposa, 1978; IARC monographs, 1981; Baltus et al, 1983) 등 세포독성을 일으킨다는 다

수의 보고가 있다. 또한 실험동물에 대한 SCE 및 염색체 이상 등의 조사(Stetka et al, 1978; Huff et al, 1982; Wilmer et al, 1984)와 임상적인 *in vivo* 독성연구(Littlefield et al, 1980; Nevstad, 1978; Musilova et al, 1979) 등이 활발하게 진행되어 왔다.

Perry와 Wolff(1974)에 의해 개발된 FPG(fluorescence-plus-Giemsa) 법으로 SCE(sister-chromatid-exchange) 빈도는 물론 세포분열주기 변동을 조사할 수 있게 되므로써(Morimoto & Wolff, 1980a, b) benzene (Morimoto et al, 1980) 및 γ -ray와 bleomycin

(Morimoto et al, 1984) 등에 의해 세포분열주기가 지연된다는 연구가 보고 되었다. 그러나 항암제에 의한 세포분열주기 지연 효과는 mitomycin C(Miura et al, 1983; 黃등, 1986b)와 cyclophosphamide에 대한 mouse 세포분열주기 변동의 연구 등(Wilemer et al, 1984; Takeshita & Conner, 1984) 일부에 국한되어 있다.

본 연구에서는 黃등(1986b)의 조사에서 보고된 항암제 mitomycin C 이외에 임상적으로 많이 사용되고 있는 cyclophosphamide, adriamycin, busulfan 과 methotrexate를 추가하여 보다 광범위하게 이들 항암제에 대한 SCE 빈도, 세포분열지수 및 세포분열주기 변동을 조사하여 항암제와 세포독성과의 용량대 반응의 관계 및 SCE 유발과 세포분열주기 지연과의 상호관계를 연구자본 연구를 시도하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 세포배양

배양을 위한 혈액은 성인 남자의 전완정맥으로부터 heparin 처리를 한 멸균주사기로 채혈하였다. 세포배양은 Latt(1973)와 黃등(1986a)의 방법을 참조하여 다음과 같이 하였다. 배지는 RPMI 1640(GIBCO)에 25 mM HEPES buffer(GIBCO), 15% fetal bovine serum(GIBCO), penicillin-streptomycin 100units-100 µg/ml(GIBCO), 2% phytohemagglutinin-M(PHA-M, GIBCO)을 가하여 제조하였다. 세포배양은 상기 배지 5 ml에 각각 0.2 ml의 혈액을 접종하고 암시야의 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 배양하였다.

2. 항암제의 처리

공시 항암제는 cyclophosphamide(Asta Werke AG Chemische Fabrick, West Germany), mitomycin C(Kyowa Hakko Co. Ltd., Japan), busulfan(The Wellcome Foundation Ltd., England), adriamycin(Farmitalia Carlo Erba Ltd., Italy)과 methotrexate(ABIC Ltd., Israel) 이었으며 RPMI 1640 배지에 용해한 후 계열희석하여 배지 5 ml당 50 µl씩 첨가하여 원하는 농도가 되게 하였다(표 1).

혈액을 24시간 배양한 후 항암제를 첨가하여 48시간 추가 배양하였다. 한편, 대조염색을 위하여 10 µM의 BrdU

(5-bromo-2'-deoxyuridine, Sigma)를 항암제와 함께 첨가하였다.

3. 염색 및 계수와 자료분석

배양세포는 고정 3시간전에 colchicine(0.5 µg/ml, Sigma)으로 처리한 후 원심분리하여 얻었으며, 0.075 M KCl 저장액에 10분간 정치하여 다시 원심분리한 후 methanol과 acetic acid(3:1) 용액에 30분씩 3회 고정하였다. 고정된 세포들은 슬라이드글라스 위에 떨어뜨리고 자연건조시켜 Perry와 Wolff(1974)의 방법에 따라 FPG 염색을 하였다. 즉, Hoechst-33258을 탈이온수에 5 µg/ml 농도로 희석한 용액에 15분간 형광염색한 후 탈이온수로 가볍게 세척하고 슬라이드글라스 위에 인산완충액(pH 7.0)을 떨어뜨린 뒤 커버글라스를 덮고 형광등(20 W, 10 cm)하에서 6~10시간 정치한 다음 탈이온수에서 커버글라스를 제거한 후 60°C의 2×SSC 용액(0.3 M sodium chloride-0.03 M sodium citrate)에 2시간 동안 정치한 후 Soerensen's buffer(pH 6.8)에 희석한 3% Giemsa 용액(Gurr's R66)에 30분간 염색하였다.

염색이 끝난 표본은 Soerensen's buffer(pH 6.8)에 2~3회 가볍게 세척한 후 자연건조시켜 balsam mounting하여 관찰하였다.

SCE 빈도는 각 농도마다 2차분열 중기세포를 1,000 배 시야에서 적어도 30개 이상 연속적으로 조사하여 그 평균치를 SCE 빈도로 나타내었으며 세포분열지수는 100 배 시야에서 적어도 1,000개 이상의 세포를 계수하고 분열중인 세포수를 전체에 대한 백분율로 나타내었다.

자료의 통계분석에서 SCE 빈도 변화는 t검정을 하였으며, 세포분열주기변동은 χ^2 검정을 하였다.

III. 결 과

항암제의 농도에 따른 SCE 빈도, 세포분열지수 및 세포분열주기변동에 대한 실험결과는 표 1과 같다.

표 1에서와 같이 대조군의 SCE 빈도는 7.4 ± 2.8 이었으며 각 항암제의 농도증가에 따라 유의한 SCE 빈도증가를 보인 최저농도는 adriamycin과 mitomycin C에서 각각 7.80×10^{-9} M과 6.25×10^{-9} M 이었으며($P < 0.01$), busulfan과 cyclophosphamide에서는 각각 8.00×10^{-8} M과 2.50×10^{-4} M이었다($P < 0.05$). 또한 이들 농도에서 SCE 빈도는 각각 11.9 ± 5.2 , 13.2 ± 2.8 ,

Table 1. The frequency of SCEs, mitotic indices, and proportion of metaphase cells in human lymphocytes treated for 72-hour incubation with various concentration of anticancer agents

Concentration (M)	SCEs per cell	Mitotic index (percent)	Percent of metaphase cells		
			X1	X2	X3+
Control	7.4 ± 2.8 ^a	4.8 ± 1.6	34.8 ± 4.5	38.3 ± 3.9	27.0 ± 6.5
Adriamycin					
7.80 X 10 ⁻⁹	11.9 ± 5.2**	4.7 ± 1.0	38.0 ± 3.4	42.8 ± 4.1	18.3 ± 3.1
1.56 X 10 ⁻⁸	14.8 ± 5.2**	4.2 ± 2.1	42.2 ± 5.1	42.8 ± 5.1	15.0 ± 2.9
3.12 X 10 ⁻⁸	17.7 ± 5.4**	3.7 ± 1.3	45.8 ± 3.7	46.4 ± 4.2	7.8 ± 3.7# #
6.25 X 10 ⁻⁸	20.9 ± 8.8**	3.3 ± 1.5	75.7 ± 2.5	21.3 ± 3.8	3.0 ± 1.8# #
1.25 X 10 ⁻⁷	15.0 ± 8.2**b	1.5 ± 0.9	80.4 ± 4.5	14.0 ± 2.5	5.6 ± 2.3# #
2.50 X 10 ⁻⁷	12.2 ± 5.7**b	0.6 ± 0.8 ^c	84.5 ± 4.9	9.5 ± 2.1	6.0 ± 2.8# #
Mitomycin C					
6.25 X 10 ⁻⁹	13.2 ± 2.8**	5.5 ± 2.4	29.8 ± 2.8	49.8 ± 1.5	20.4 ± 2.6
1.25 X 10 ⁻⁸	23.9 ± 4.8**	4.5 ± 1.8	36.4 ± 3.0	46.8 ± 4.6	16.8 ± 2.2
2.50 X 10 ⁻⁸	38.0 ± 4.7**	3.7 ± 2.1	42.8 ± 2.3	46.6 ± 5.3	10.6 ± 3.9#
5.00 X 10 ⁻⁸	48.1 ± 6.8**	2.7 ± 1.2	51.6 ± 8.2	39.0 ± 8.1	9.8 ± 2.4# #
1.00 X 10 ⁻⁷	75.8 ± 8.2**	2.8 ± 1.5	63.4 ± 3.8	30.2 ± 2.6	6.4 ± 3.4# #
Busulfan					
3.20 X 10 ⁻⁷	6.2 ± 2.3	4.3 ± 1.6	36.6 ± 2.4	39.2 ± 2.4	24.0 ± 3.3
1.60 X 10 ⁻⁶	6.5 ± 2.1	4.2 ± 1.5	36.6 ± 4.2	34.2 ± 7.0	29.2 ± 3.1
8.00 X 10 ⁻⁶	9.1 ± 4.4*	3.3 ± 2.5	43.8 ± 6.6	32.4 ± 1.1	23.8 ± 2.7
4.00 X 10 ⁻⁵	11.9 ± 4.7**	1.8 ± 1.9	51.0 ± 3.2	30.0 ± 1.6	19.0 ± 3.4
2.00 X 10 ⁻⁴	22.5 ± 6.7**	1.1 ± 0.3	67.0 ± 4.4	26.7 ± 2.5	6.3 ± 3.1# #
1.00 X 10 ⁻³	48.2 ± 9.8** ^b	0.6 ± 0.7 ^c	85.5 ± 1.4	9.0 ± 1.4	5.5 ± 2.1# #
Cyclophosphamide					
2.50 X 10 ⁻⁴	9.1 ± 2.6*	4.0 ± 1.4	38.2 ± 3.1	43.2 ± 1.5	18.6 ± 2.9
5.00 X 10 ⁻⁴	13.7 ± 4.1**	4.4 ± 2.1	39.8 ± 5.3	35.2 ± 7.2	25.2 ± 6.3
1.00 X 10 ⁻³	19.3 ± 4.4**	3.6 ± 2.1	40.8 ± 1.6	36.0 ± 6.6	23.2 ± 6.9
2.00 X 10 ⁻³	26.9 ± 6.6**	3.3 ± 0.9	47.6 ± 3.6	38.6 ± 4.2	14.0 ± 4.9#
Methotrexate					
8.00 X 10 ⁻⁶	8.0 ± 2.9	3.9 ± 1.3	43.8 ± 3.0	39.2 ± 2.4	17.0 ± 3.3
4.00 X 10 ⁻⁵	6.6 ± 2.4	2.1 ± 0.8	51.2 ± 3.1	36.0 ± 7.9	12.8 ± 3.2#
2.00 X 10 ⁻⁴	8.4 ± 4.3	1.3 ± 0.7	51.4 ± 4.8	39.0 ± 2.2	9.6 ± 3.4# #
1.00 X 10 ⁻³	7.1 ± 4.2b	1.2 ± 1.1	54.6 ± 4.1	38.6 ± 7.2	6.6 ± 3.2# #
5.00 X 10 ⁻³	7.6 ± 2.7b	0.7 ± 1.0c	57.6 ± 2.1	36.5 ± 2.1	6.0 ± 4.2# #

a Mean ± S.D.

* Significant by Student's test (P < 0.05) ** P < 0.01

Significant by Chi-square test for trends (P < 0.05) ## P < 0.01

b Below twenty cells were scored for SCEs because this concentration was highly cytotoxic

c Only few cells were scored because this concentration was highly toxic

X1, X2, and X3 + indicates the first, second, and third or more division cells which were determined by the fluorescence plus Giemsa (FPG) staining

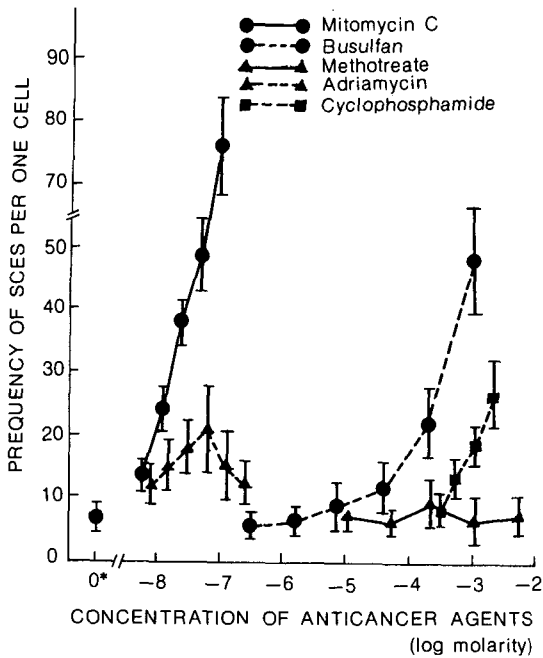


Fig. 1. Dose-response curves for SCE frequency in human lymphocytes in proportion to concentration of five anticancer agents. (0* control)

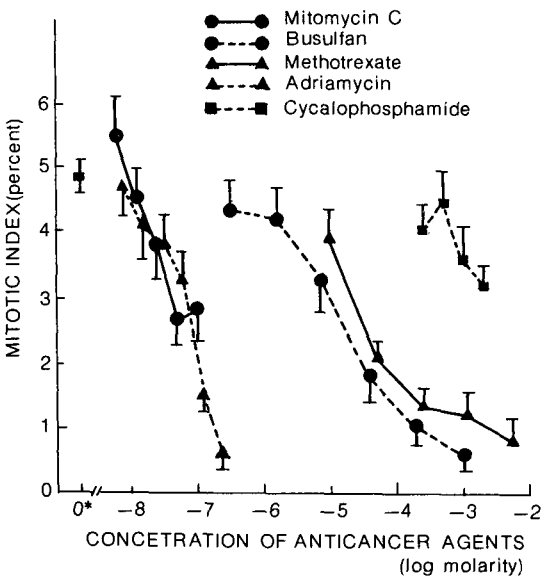


Fig. 2. Mitotic index is markedly decreased in the higher concentrations of five anticancer agents except Mitomycin C. (0* control)

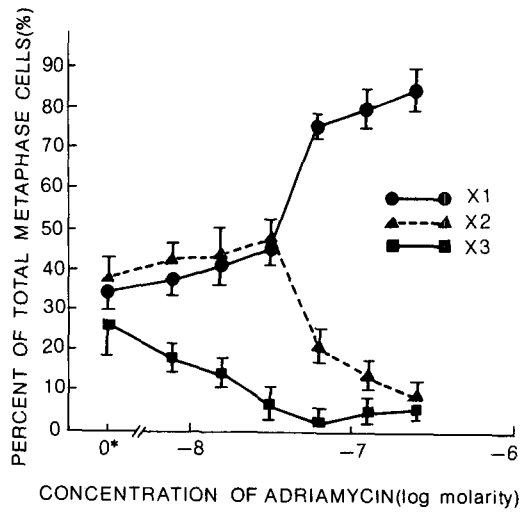


Fig. 3. The relative proportion of 1st (X1), 2nd (X2), and third (X3) division metaphase cells in cultures exposed to various concentration of Adriamycin (0* control)

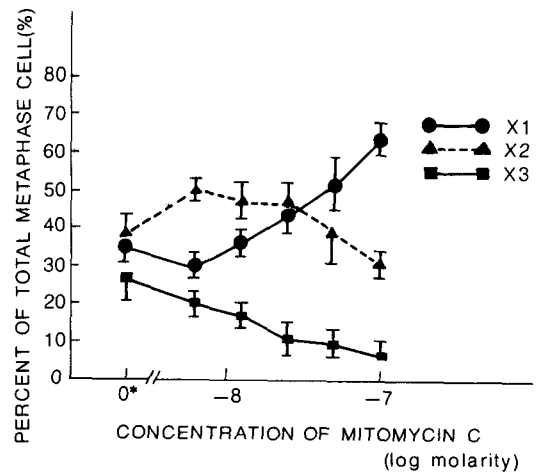


Fig. 4. The relative proportion of 1st (X1), 2nd (X2), and third (X3) division metaphase cells in cultures exposed to various concentrations of Mitomycin C (0* control).

9.1±4.4 및 9.1±2.6 등이었다.

한편, busulfan의 농도 $1.60 \times 10^{-6}M$ 이하에서는 유의성이 인정되지 않았으며 methotrexate에서는 전농도에서 유의한 SCE 빈도 변화를 보이지 않았다 ($P > 0.05$).

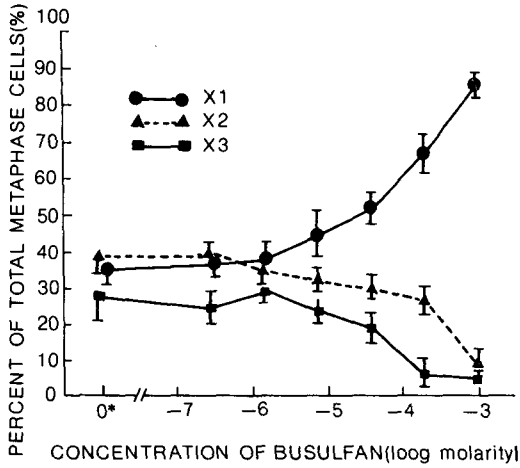


Fig. 5. The relative proportion of 1st (X1), 2nd (X2), and third (X3) division metaphase cells in cultures exposed to various concentrations of Busulfan (0* control).

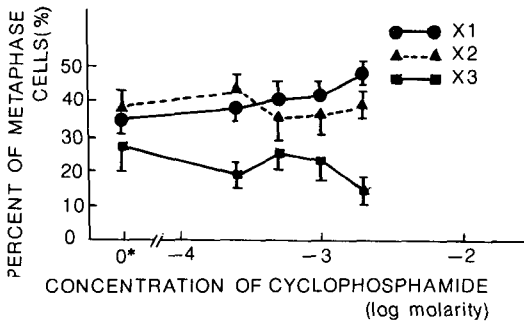


Fig. 6. The relative proportion of 1st (X1), 2nd (X2), and third (X3) division metaphase cells in cultures exposed to various concentrations of Cyclophosphamide (0* control).

adriamycin의 농도 $1.25 \times 10^{-7}M$ 이상에서는 최대 SCE 빈도 (20.9 ± 9.8)에 비하여 크게 감소되었고 ($P < 0.01$) 현저한 세포분열억제로 관찰할 수 있는 2차 중기분열세포도 20개 미만이었으며 methotrexate의 농도 $1.00 \times 10^{-3}M$ 이상에서도 같은 결과였다. mitomycin C는 가장 강력한 SCE 유발제로 나타났으며 최대 SCE 빈도 75.8 ± 8.2 는 대조군의 10배에 달하였고 busulfan과 함께 농도증가에 따라 현저한 대수 증가를 보였다(그림 1).

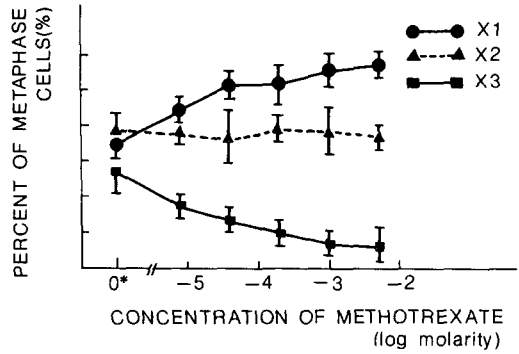


Fig. 7. The relative proportion of 1st (X1), 2nd (X2), and third (X3) division metaphase cells in cultures exposed to various concentrations of Methotrexate (0* control).

세포분열지수는 대조군에서 $4.8 \pm 1.6\%$ 로 나타났으며 항암제의 농도증가에 따라 현저한 감소현상을 보였다. 특히, busulfan, adriamycin 및 methotrexate에서 가장 현저하였으며(그림 2), 고농도에서는 분열중의 세포를 거의 관찰할 수 없었다(표 1). 반면에 cyclophosphamide에서 현저한 세포분열지수 감소현상은 나타나지 않았다. 세포분열주기 변동은 대조군에서 1차(X₁), 2차(X₂) 및 3차이상(X₃+)의 중기분열세포의 비율이 각각 34.8 ± 4.5 , 38.3 ± 3.9 및 $27.0 \pm 6.5\%$ 로 나타났다.

세포분열주기 지연 현상은 adriamycin의 농도 $3.12 \times 10^{-8}M$ ($P < 0.01$), mitomycin C의 $2.5 \times 10^{-8}M$ ($P < 0.05$)과 $5 \times 10^{-8}M$ ($P < 0.01$), busulfan의 $2 \times 10^{-4}M$ ($P < 0.01$) 및 methotrexate의 $4 \times 10^{-5}M$ ($P < 0.05$)과 $2 \times 10^{-4}M$ ($P < 0.01$) 이상의 농도에서 1차 중기분열세포의 비율보다 현저하게 증가된 반면 3차 중기분열세포의 비율은 현저하게 감소되었다(그림 3, 4, 5, 7). 특히 adriamycin, busulfan 및 methotrexate의 고농도에서는 현저한 세포분열 억제로 관찰 가능한 분열세포수가 200개 미만이었다.

그러나, cyclophosphamide에서는 $2 \times 10^{-3}M$ 을 제외하고는 ($P < 0.05$) 지연효과가 나타나지 않았다 ($P > 0.05$)(그림 6).

IV. 고 안

SCE 현상은 발암원과 돌연변이원 검출에 가장 용이하고 민감한 지수(index)로 알려져 있으며(Perry &

Evans, 1975 ; Bauknecht, 1977 ; Takehisa, 1982 ; Carrano, 1978) 세포유전학적 독성검사에 널리 적용되고 있다(Bradley등, 1979 ; Nishi등, 1984 ; Iijima등, 1984).

본 조사결과 SCE 빈도는 항암제의 농도 증가에 따라 증가되었으며 이러한 결과는 많은 연구들(Perry & Evans, 1975 ; Carrano, 1978 ; Waalkens등, 1981 ; Stetka등, 1978 ; Wilmer등, 1984 ; Nevstad, 1978 ; Miura등, 1983 ; Takeshita & Conner, 1984 ; Nakanishi등, 1979 ; Norppa등, 1983 ; Speit등, 1985 ; Morimoto등, 1985)과도 잘 일치하고 있다.

Adriamycin에서 얻은 세포당 최대 SCE 빈도(20.9±8.8)는 Nevstad(1978)의 100 ng/ml의 농도로 48시간 처리하여 얻은 SCE 빈도(24.5)보다 약간 낮지만 유사한 결과였으며 정등(1982)과 Nevstad(1978)의 200 ng/ml에서 24시간 처리하여 얻은 최대 SCE 빈도와 대체적으로 일치하였다. 또한 최대 SCE 빈도를 보인 그 이상의 농도에서는 현저한 세포분열 억제와 DNA 합성 억제로 관찰이 불가능하였으며 일정한 농도까지는 농도증가 및 처리시간과 비례하여 SCE 빈도가 증가되었다(Nevstad, 1978 ; 정등, 1982). methotrexate에서는 세포분열을 현저하게 억제시키나 G₀기에 methotrexate에 노출된 Littlefield등(1979)의 실험결과에서 처럼 SCE 빈도는 증가되지 않았다. 이것은 다른 항암제에 비해 세포독성이 낮으면서 기인된 것이 아니라 서로 작용하는 기전의 차이라고 여겨진다(Musilova등, 1979). 즉, 알킬계 약제이며 가장 강력한 SCE 유발제인 mitomycin C와 busulfan은 직접 DNA의 알킬화나 교차결합(crosslink)에 관여하고 항생제 adriamycin은 DNA와 결합하여 RNA의 단백질 합성을 억제하므로써 SCE 형성과 염색체이상에 관여한다. 그러나, methotrexate의 경우는 folic acid 합성을 억제하므로써 결국 DNA의 전구물질 합성을 억제하여 간접적으로 DNA 합성에 관여하여 염색체이상이나 SCE 빈도에는 직접 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다(DeVita, 1983).

세포분열지수나 세포분열주기 변동에는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 알려진 cyclophosphamide에 의한 SCE 유도는 microsomal activation이 요구된다는 보고(Perry & Evans, 1975 ; Wilmer등, 1984)와 그 자체만으로도 임파구에 세포독성을 나타내어 SCE를 유발한다는 보고(Waalkens등, 1981 ; Norppa등, 1983)가 있

지만 본 조사결과는 cyclophosphamide만으로도 직접 임파구에 작용하여 SCE를 유발한다는 후자의 견해를 뒷받침하여 주고 있다. busulfan은 농도증가에 따라 크게 SCE가 증가되지만 *in vivo* 투여후 SCE 빈도는 유의하게 증가되나 절대값이 대조군의 SCE 빈도 범위라는 보고(Musilova등, 1979)를 감안할 때 더 많은 연구가 요망된다.

임파구 배양시 나타나는 서로 다른 세대의 중기분열세포의 불균일성은 세포들이 주로 PHA에 반응하여 최초로 DNA 합성을 시작한 시기의 차이에서 기인되며 화학물질 처리에 의해 세포분열주기가 지연되어 1차, 2차 및 3차 이상 분열세포의 비율이 달라진다(Morimoto & Wolff, 1980a, b). 이러한 세포분열지연은 X선조사, BrdU 농도(Scott & Lyons, 1979), r-선과 bleomycin(Morimoto등, 1984), 유전성 질환자(Miura등, 1983) 및 방사성 동위원소 표지염기(³H]thymidine)(Morimoto등, 1983)등에 의해서도 나타난다. 그리고, 노출 시기에 따라서도 r-선에 의한 세포분열지연기간은 G₀기보다는 G₁기에 받았을때 더욱 길어진다. 또한, 세포분열지연은 G₁기보다는 S기에서 G₂기 사이에 조사된 세포에서 더 긴 것으로 보고 되었다(Morimoto등, 1984).

본 실험결과는 세포분열주기 지연과 SCE 빈도와의 관계에서 일반적으로 세포분열 지연과 SCE 빈도 증가 사이에 깊은 상관관계가 있지만 methotrexate와 adriamycin의 경우에는 상관성을 보이지 않았다.

이러한 결과는 세포분열주기 지연이 길어질수록 더 많은 SCE가 유도된다는 견해(Littlefield등, 1980 ; Morimoto & Wolff, 1980a, b ; Morimoto등, 1985 ; Littlefield등, 1979)와 일반적으로 일치되고 있다. 그러나, S-9 mix로 활성화된 benzene은 농도 증가에 따라 세포분열주기 지연과 SCE를 증가시키지만 S-9 mix의 비율에 따라 달라지며 최적 SCE 유발 농도와 세포분열주기 지연 농도가 다르기 때문에 SCE를 일으키는 대사 물질과 세포분열주기에 지연에 관여하는 물질이 서로 다른 것으로 추정되고 있다(Morimoto, 1983). 또한 mitomycin C에 의한 Fanconi's Anemia 환자의 배양 임파구의 SCE 빈도는 정상인과 유사하나 세포분열지연은 현저한 차이를 보이고 있다(Miura등, 1983). SCE 유발과 세포분열주기지연과는 다른 기전으로도 일어남을 시사해 주고 있다.

따라서 세포분열주기지연과 SCE 유도와의 관계를 구

명하기 위해서는 배양시간별로 SCE 빈도를 측정하여 세포분열주기 지연에 의한 최적 SCE 관찰시간을 결정하므로써 본 실험에서와 같이 일시에 세포를 수거하여 진정한 지연효과를 관찰하지 못한 결점을 보완하고, 기타 *in vivo*에서 임파구의 수, 수명 및 보충시간(turnover time)을 조사하므로써 보다 타당한 결론에 접근할 수 있으리라고 사료된다.

염색체이상은 pyrimidine dimer 형성, 이중나선구조의 절단(Palitti 등, 1983) 등 유발기전이 알려져 있으며 SCE 형성기전은 아직 불확실하나 DNA 수복기전과 관련된 것으로 생각된다(Kato, 1974).

최근의 연구결과는 BrdU와 methylsulfonate에 의해서 생긴 DNA 손상의 수복 과정에서 복제중인 DNA의 복제점(replication fork)이 BrdU와 methylsulfonate에 의해서 생긴 gap에 이룰때 gap이 제거되고 결찰(ligation)이 지연되므로써 합성중의 DNA가 gap이 생긴 쪽의 DNA와 연결된 후 반대쪽 DNA 사슬이 절단되어 회전되므로써 절단이 수복된 DNA는 극성에 의해 gap이 새로이 형성된 쪽의 DNA와 연결되어 SCE가 형성된다고 보고 하였다(Saffhill & Ockey, 1985).

그러나, SCE 유도가 화학물질의 종류에 따라 다르다는 점을 감안할 때 SCE 형성기전은 아직도 논의되어야 할 문제이다.

한편, *in vivo*에서 SCE 빈도는 염색체이상에 앞서 저농도에서도 유발되는 예민성을 보이지만(Latt & Schreck, 1980) 단시간에 다량의 항암제를 투여한 후 일시적으로 SCE 빈도가 증가되고 시간이 지남에 따라 감소되어 독성검사 지수로서의 가치에 대하여는 논란이 많다(Huff 등, 1982; Nevstad, 1978). 그러나, 반복적인 만성노출은 단기혈액배양에서 SCE 빈도를 증가시키므로(Stetka 등, 1978) 본 연구에서 다루지 못한 염색체이상과 *in vivo*에서의 SCE 검사법을 병용한다면 각종 항암제는 물론 각종 중금속, 화학물질 등에 대한 생체독성 예방대책 및 진단에 가장 예민한 지수가 될 것으로 예견되며, 아직도 미결상태에 있는 SCE 형성기전과 그 생물학적 의의를 구명하기 위한 노력은 금후의 과제라고 사료된다.

V. 요 약

항암제와 세포독성과의 관계를 알아보기 위하여

임파구에서 SCE 빈도, 세포분열지수 및 세포분열주기변동을 조사한 결과는 다음과 같다.

1) 항암제 농도증가에 따라 SCE 빈도는 대조군에 비해 유의하게 증가되었으며($P < 0.01$), methotrexate에서는 유의성이 인정되지 않았다($P > 0.05$).

2) 세포분열지수는 cyclophosphamide를 제외한 공시항암제에 대하여 현저하게 감소되었다.

3) 항암제의 농도증가에 따라 세포분열주기는 현저하게 지연되었으며 고농도에서는 현저한 세포분열 억제로 정상적인 세포분열이라 할 수 없는 강한 세포독성효과를 보였다.

이 결과는 알킬계 약제가 다른 항암제에 비해 강한 SCE 유발제이며 SCE 유발과 세포분열주기 지연과는 깊은 상관성이 인정되지만 methotrexate 경우에는 그 상관성을 인정할 수 없었다. 이는 SCE 유발과 세포분열주기 지연이 서로 다른 기전에 의해서도 나타남을 제시해주고 있다.

참 고 문 헌

- 鄭瑛載, 梁榮浩, 朴喜子. 抗癌劑 adriamycin에 의해 유발된 인체 백혈구의 染色體 異常과 姉妹染色分體 交換에 관한 연구. *Korean J Genet* 1982; 4:33-45
- 黃仁瀾, 朴榮洙, 金有卓, 高大河, 李定相. 重金屬이 培養 淋巴球의 姉妹染色分體 交換에 미치는 影響. 全北醫大論文集 1986a; 10(1):1-9
- 황인담, 기노석, 이정상, 김남승, 문태일. 항암제 mitomycin C가 배양임파구의 자매염색체교환에 미치는 영향. *예방의학회지* 1986, 6; 19(2):244-251
- Baltus JAM, Boersma JW, Hartman AP, Vandembroucke JP. The occurrence of malignancies in patients with rheumatoid arthritis treated with cyclophosphamide: A controlled retrospective follow-up. *Ann Rheum Dis* 1983; 42:368-373
- Bauknecht T, Vogel W, Bayer U, Wild D. Comparative *in vivo* mutagenicity testing by SCE and micronucleus induction in mouse bone marrow. *Genet* 1977; 35: 299-307
- Bradley MO, Hsu IC, Harris CC. Relationships between sister chromatid exchanges and mutagenicity, toxicity and DNA damage. *Nature* 1979; 282:318-320
- Breslow NE, Day NE. Statistical methods in cancer research. In: W. Davis (ed.), *The analysis of case-control studies*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 1980

- Carrano AV, Thompson LH, Lindl PA, Minkler JL. Sister chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. *Nature* 1978; 271:551-553
- Cohen MM, Shaw MW. Effects of mitomycin C on human chromosomes. *Cell Biol* 1964; 23:386-395
- DeVita VT. Jr. Principles of cancer therapy. In: Petersdorf RG, Adams RD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Wilson JD. *Harrison's principles of internal medicine*. 10th ed. New York, McGraw-Hill Co., 1983, pp. 765-775
- Huff V, DuFrain RJ, Littlefield LG. SCE frequency in rabbit lymphocytes as a function of time after an acute dose of cyclophosphamide. *Mutat Res* 1982; 94:349-957
- IARC Monographs. Some antineoplastic and immunosuppressive agents. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 1981; 26:165-202
- Iijima K, Morimoto K, Koizumi A, Higurashi M, Hirayama M. Bleomycin-induced chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in Down lymphocyte cultures. *Hum Genet* 1984; 66:57-61
- Kato H. Spontaneous sister chromatid exchanges detected by BrdU-labelling method. *Nature* 1974; 251:70-72
- Latt SA. Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 1973; 70:3395-3399
- Latt SA, Schreck RR. Sister chromatid exchanges analysis. *Hum Genet* 1980; 32:297-313
- Littlefield LG, Colyer SP, DuFrain RJ. Comparison of sister chromatid exchanges in human lymphocytes after Go exposure to mitomycin C in vivo vs. in vitro. *Mutat Res* 1980; 69:191-197
- Littlefield LG, Colyer SP, Sayer AM, DuFrain RJ. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes exposed during Go to four classes of DNA-damaging chemicals. *Mutat Res* 1979; 67:259-269
- Miura K, Morimoto K, Koizumi A. Proliferative kinetics and mitomycin C-induced chromosome damage in Fanconi's anemia lymphocytes. *Hum Genet* 1983; 63:19-23
- Morimoto K. Induction of sister chromatid exchanges and cell division delays in human lymphocytes by microsomal activation of benzene. *Cancer Res* 1983; 43:1330-1334
- Morimoto K, Kaneko T, Iijima K, Koizumi A. Proliferative kinetics and chromosome damage in trisomy 21 lymphocytes cultured exposed to r-rays and bleomycin. *Cancer Res* 1984; 44:1499-1504
- Morimoto K, Miura K, Koizumi A. Rapid estimation of the duration of r-ray-induced proliferation delay in human lymphocytes by the harlequin staining technique. *Radioisotopes* 1984; 33:21-25
- Morimoto K, Sato M, Koizumi A. Proliferative kinetics of human lymphocytes in culture measured by autoradiography and sister chromatid differential staining. *Exp Cell Res* 1983; 145:349-356
- Morimoto K, Sato M, Koizumi A. Sister chromatid exchanges and cell cycle kinetics in human lymphocyte cultures exposed to alkylating mutagens: Apparent deformity in dose response relationships. *Mutat Res* 1985; 152:187-196
- Morimoto K, Wolff S. Cell kinetics in human lymphocytes cultures. *Nature* 1980a; 288:604-606
- Morimoto K, Wolff S. Increase of sister chromatid exchanges and perturbations of cell division kinetics in human lymphocytes by benzene metabolites. *Cancer Res* 1980b; 40:1189-1193
- Musilova J, Michalova K, Urban J. Sister chromatid exchanges and chromosomal breakage in patients treated with cytostatics. *Mutat Res* 1979; 67:289-294
- Nakanishi Y, Kram D, Schneider. Aging and sister chromatid exchanges IV. Reduced frequencies of mutagen-induced sister chromatid exchanges in vivo in mouse bone marrow cells with aging. *Cytogenet Cell Genet* 1979; 24:61-67
- Nevstad NP. Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations induced in human lymphocytes by the cytostatic drug adrimaycin in vivo and in vitro. *Mutat Res* 1978; 57:253-258
- Nishi Y, Hasegawa MM, Taketomi M, Ohkawa Y, Inui N. Comparison of 6-thioguanine-resistant mutation and sister chromatid exchanges in Chinese hamster V79 cells with fourth chemical and physical agents. *Cancer Res* 1984; 44:3270-3279
- Norppa H, Vainio H, Sorsa M. Metabolic activation of styrene by erythrocytes detected as increased sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Cancer Res* 1983; 43:3579-3582
- Palitti F, Tanzarella C, Degrassi F, Salvia RD, Fiore M, Natarajan AT. Formation of chromatid-type aberration in G₂ stage of the cell cycle. *Mutat Res* 1983; 110:343-350
- Perry P, Evans HJ. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* 1975; 258:121-125
- Perry P, Wolff S. New Giemsa method for differential

- staining of sister chromatids. Nature* 1974; 251:156-158
- Raposa T. *Sister chromatid exchanges studies for monitoring DNA damage and repair capacity after cytostatics in vitro and in lymphocytes of leukemic patients under cytostatic therapy. Mutat Res* 1978; 57:241-251
- Saffhill R, Ockey CH. *Strand breaks arising from the repair of the 5-bromodeoxyuridine-substituted template and methyl methane sulphonate-induced lesions can explain the formation of sister chromatid exchanges. Chromosoma* 1985; 92:218-224
- Schinzel A, Schmid W. *Lymphocyte chromosome studies in human exposed to chemical mutagens: The validity of the method in 67 patients under cytostatic therapy. Mutat Res* 1976; 40:139-166
- Scott D, Lyons CY. *Homogeneous sensitivity of human peripheral blood lymphocytes to radiation-induced chromosome damage. Nature* 1979; 278:756-758
- Shaw MW. *Human chromosome damage by chemical agents. Annu Rev Med* 1970; 21:409-432
- Speit G, Vogel W, Mehnert K. *Do the frequencies of sister chromatid exchanges in endoreduplicated mitosis provide a measure for lesion persistence and repair? Chromosoma* 1985; 91:369-371
- Stetka DG, Minkler J, Carrano AV. *Induction of long-lived chromosome damage, as manifested by sister chromatid exchanges, in lymphocytes of animal exposed to mitomycin C. Mutat Res* 1978; 51:383-396
- Stevenson AC, Patel C. *Effects of chlorambucil on human chromosomes. Mutat Res* 1973; 18:333-351
- Takehisa S. *Induction of sister chromatid exchanges by chemical agents. In: Wolff S.(ed.) Sister chromatid exchange. Wiley, New York, 1982, pp. 87-148*
- Takeshita T, Conner MK. *Accumulation and persistence of cyclophosphamide-induced sister chromatid exchange in murine peripheral blood lymphocytes. Cancer Res* 1984; 44:3820-3824
- Waalkens DH, Joosten HFP, Taalman RDFM, Scheres JMJC, Yin T, Hokestra A. *Sister chromatid exchanges induced in vitro by cyclophosphamide without exogenous metabolic activation in lymphocytes from three mammalian species. Toxicol Letters* 1981; 7:229-232
- Wilmer JL, Erexon GL, Kligerman D. *Sister chromatid exchange induction in mouse B- and T-lymphocytes exposed to cyclophosphamide in vitro and in vivo. Cancer Res* 1984; 44:880-884
-