

수종약물이 Dimethylnitrosamine에 의한 DNA, RNA 및 단백질 손상도에 미치는 영향

김재현 · 박정식 · 홍성렬* · 권오철** · 박창원** · 이동권**

국립보건안전연구원 일반독성과, *성균관대학교 유전공학과, **약학과

(Received December 2, 1991)

Effect of Several Drugs of DNA, RNA and Protein Damage induced by Dimethylnitrosamine in Mouse Tissues

Jea Hyun Kim, Jung Sik Park, Sung Ryul Hong*, O-Cheul Kweon**, Chang Won Park** and Dong Kwon Rhee**

Department of General Toxicology, National Institute of Safety Research, Seoul 122-020

*Department of Genetic Engineering, **Department of Pharmacy,
Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

Abstract—The purpose of this research is to evaluate effects of chloramphenicol, phenobarbital and progesterone on damage of DNA, RNA and protein which was induced by dimethylnitrosamine. N,N-Di-[¹⁴C] methyl-nitrosamine (DMN) was used as a damaging agent and levels of DNA, RNA and protein damage in liver, brain and pancreas were compared with a control group. Pretreatment of mice with chloramphenicol increased protein damage in pancreas two times more than the control level. Liver RNA damage was increased up to 5.8 times and brain DNA damage up to 6.95 times by treatment of phenobarbital but brain RNA damage was decreased significantly down to 21% of the control group. The damage of liver RNA was significantly decreased by treatment of progesterone, although liver protein damage, pancreas RNA damage and pancreas protein damage were increased.

Keywords □ Dimethylnitrosamine, DNA-adduct, covalent-binding index, phenobarbital, progesterone, chloramphenicol.

화학물질에 의해 유도되는 암은 DNA가 손상되어 비정상적인 염기가 형성된 후(initiation) 적절히 촉진(promotion)되어 나타난다고 추측되고 있다.¹⁵⁾ 발암물질인 dialkylnitrosamine류는 장기친화성이 있는 특정조직에서만 대사되어 발암성을 나타낸다.¹⁾ 그 중 dimethylnitrosamine(DMN)은 식도와 신장, 특히 간장에서 상당한 비율로 산화되어 종양을 생성시킨다.²⁻⁴⁾ 특히 간의 mixed function oxidase계는 DMN의 α-탄소를 hydroxylation하여 탈메틸화시킴으로써 활성 물질인 carbonium이온을 생성하며,⁵⁾ 이 carbonium이온이 DNA, RNA와 단백질 등 생체를 구성하고 있는

거대분자와 결합하여 methyl adduct를 형성하게 된다.⁶⁻¹⁰⁾ 특히 DNA와 반응하여 비정상적인 7-methylguanine과 O⁶-methylguanine을 주로 형성하고 소량의 다른 메틸화된 nucleotide도 형성한다.¹¹⁾ 그 중 O⁶-methylguanine의 형성은 hamster에서 DMN의 투여 용량과 비례적으로 증가하지 않으며, 이것은 비정상적인 nucleotide가 신속히 repair 됨으로써 발암을 억제하기 때문이다. 그러나 제거되지 않은 O⁶-methylguanine는 세포분열을 통해 발암을 유도함으로써 변이원성 및 발암성에 관계하게 된다.¹²⁾ 또한 O⁶-methylguanine를 포함한 여러 종류의 O⁶-alkylguanine는

O⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase에 의해 수립되며 사람의 경우에는 이런 수리효소(repair enzyme)가 간에 가장 많이 분포되어 간암 유발의 억제와 밀접한 관계를 나타내고 있다.¹³⁾ Klaassen 등¹⁴⁾에 의하면 전자친화성이 있는 대사물질이 DNA 뿐만 아니라 단백질을 구성하는 tryptophan, tyrosine, methionine 및 histidine 등에도 결합하여 발암과정에 관계할 것으로 추정하였다.

DMN은 정상인의 혈액 및 뇌에서도 0.1~1 ppb 정도가 검출되고 있고,¹⁵⁾ 위장관에서 2급 아민의 nitrosation으로도 형성되기 때문에 정상인은 항상 발암성에 노출되어 있는 형편이다. 따라서 어떤 약물에 의해 DNA의 손상이 촉진되는 가에 관한 연구는 중요한 의미를 갖고 있다. 본 실험의 목적은 많이 이용되고 있는 약물로서 비정상적인 DNA 염기형성에 어떤 영향을 나타내는지 알려지지 않은 phenobarbital, progesterone, chloramphenicol을 전처리할 때 DMN에 의해 형성되는 비정상적인 DNA, RNA 또는 단백질의 양을 측정하는데 있다. Phenobarbital은 rat와 마우스의 간에서 DMN에 의한 암유발을 “촉진”한다고 일반적으로 알려져 있으나,^{17,18)} Pweraira 등¹⁹⁾에 의하면 phenobarbital 투여시의 실험동물의 성장 정도와 사용한 실험종에 따라 tumor 형성을 촉진하거나 저해한다고 주장하였다. 또한 Vesselinovitch 등²⁰⁾의 보고에 의하면 progestin norethynodrel, estrogen mestranol과 같은 스테로이드성 합성피임제가 DMN에 노출된 암컷에서 간암발생율을 증가시킨다고 하였으나 progesterone²¹⁾은 자궁암 뿐만 아니라 신장암, 유방암에서 일시적인 경감치료제로 사용하고 있다. 이와 같이 phenobarbital과 progesterone에 대해서는 발암성을 촉진시키는지 또는 억제하는지 아직 명확하지 않으며 많이 사용되고 있는 항생제인 chloramphenicol이 DMN에 어떤 영향을 미치는지도 보고되어 있지 않다. 따라서 본 실험에서는 이들 3가지 물질이 DMN에 의한 생체내의 DNA, RNA, 단백질과의 adduct 형성에 어떤 영향을 미치는지를 측정하기 위해 N,N-di[¹⁴C]-methylnitrosamine를 mouse에 복강투여하여 간, 뇌 및 췌장에서 방사성 동위원소로 표지된 methyl기가 adduct된 DNA, RNA 및 단백질을 분리하여 동위원소량을 측정하고 이 자료로부터 약물의 오·남용이 생체내 구성성분의 손상에 어떤 영향을 주는지 조사하였다.

실험방법

시약—발암제로 사용되는 N,N-di[¹⁴C]-methylnitrosamine (15 mCi/mmol)은 Amersham으로부터 구입하였으며, phenobarbital, chloramphenicol, progesterone, ribonuclease A, 2-ethoxyethanol, *p*-aminosalicylic acid, sodium lauryl sulfate, phenol, *m*-cresol, 8-hydroxyquinoline 1,4-bis(5-phenyl-2-yl)-benzene (POPOP), 2,5-diphenyl-oxazole(PPO)은 Sigma로부터 구입하였고, 기타 시약은 특급(G.R.)을 사용하여 실험에 사용하였다.

실험동물 및 사육조건—생후 5주령의 건강상태가 양호한 ICR계 마우스(30 ± 4 g)를 실험에 사용하였으며 progesterone 투여군과 그 실험대조군은 자성마우스를, 그 밖의 실험군(웅성 실험대조군, phenobarbital 투여군, chloramphenicol 투여군)은 웅성마우스를 사용하였으며, 모든 투여군에 사용한 동물수는 각각 12마리씩으로 하였다. 동물사육조건은 온도 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $55\pm 5\%$, 명암교대 12시간(조명시간 6:00~18:00)을 유지했다.

시약의 제조—Phenol 추출용액은 Hill 등²²⁾의 방법에 따라, ribonuclease A와 10 mM Tris-Cl, 0.1 mM ethylenediamine tetraacetic acid(TE 완충액)은 Manistis 등²³⁾의 방법에 따라 제조하였다. 또한 5 mM 인산염완충액(pH 7.0)은 10 mM KH₂PO₄ 용액과 10 mM NaOH 용액을 각각 50 mL, 29.1 mL를 섞은 후 약 15 mL의 중류수를 가하고 pH를 7.0으로 맞춘 다음 전체 용량을 100 mL로 하여 완충액을 제조하였다.

시약 투여 및 조직 전처리—3주 동안 전투여약물(phenobarbital, chloramphenicol, progesterone)을 투여할 때 매일 오전 10시경에 일정하게 투여하였다. 본 실험에서 각각의 전투여 약물에 대한 사용된 동물의 성별, 투여농도 및 투여경로는 다음과 같다. Phenobarbital 투여군은 웅성 마우스에 125 mg의 phenobarbital을 포함한 250 mL의 tap water를 자유선풍기 하였다(이 양은 식수용량을 감안했을 때 마우스 1 kg당 150 mg의 phenobarbital를 섭취케 한 것임). 또한 chloramphenicol 투여군은 0.5% CMC 용액에 넣어 잘 혼탁시키고 2.5 g/kg mouse씩 웅성 마우스에 경구투여하였으며 상기 두 약물에 대한 웅성 실험대조군은 약물을 함유하고 있지 않는 물과 먹이를 자유선풍기한 것으로 하였다. Progesterone 투여군은

자성 마우스에 corn oil에 녹인 progesterone을 50 mg/kg mouse 씩 근육 주사하였으며 자성실험대조군은 corn oil를 직접 근육주사한 것으로 하였다.

투여기간이 종료되면 12시간 동안 절식시키고 N,N-di(¹⁴C)methylnitrosamine (15 mCi/mmole) 원액을 마우스 40g당 0.1 ml 씩 (5 µCi/0.1 ml) 복강투여하고, DNA가 DMN에 의해 methyl 유도체가 가장 많이 생성되는 시기라고 보고한 Pegg²⁴⁾의 보고에 따라 4 시간 후에 경추탈구하여 간, 뇌 및 췌장을 적출하였다. 적출 즉시 액화질소에 넣어 동결시키고 사용시까지 -80°C(deep freezer : Forma Scientific Co.)에 저장하였다.

조직으로부터 DNA, RNA 및 단백질의 추출—Kinoshita 등²⁵⁾과 Hill 등²²⁾이 사용한 방법을 변형하여 본 실험에 사용하였다. Freezer에서 저장한 조직을 실험조건을 일정하게 유지하기 위하여 간은 1.5±0.1g, 뇌는 0.3±0.01g, 췌장은 0.1±0.01g이 되게 잘라 homogenizer tube에 넣고 6% p-aminosalicylic acid sodium salt 용액을 5 volume 가한 후 homogenizer (Potter Elvehjam type teflon glass homogenizer)를 250 rpm으로 10회 왕복하여 조직을 마쇄하였다. 이 균질액에 10% SDS(sodium dodecyl sulfate)를 장기의 무게에 따라 간에는 500 µl, 뇌에는 100 µl, 췌장에는 50 µl를 각각 가하고 균질액과 동량의 추출용액(phenol : *m*-cresol : 8-hydroxyquinoline : water = 500 : 70 : 0.5 : 55)를 가한 후 충분히 교반한다. 그후 11,000×g로 30분간 원심분리하고 두 층의 경계면이 확실할 경우 위층에 있는 수층을 Pasteur pipett으로 취하였으며 경계면에 불확실한 층(백색층)이 발생하면 소량의 추출용액을 더 첨가해 다시 추출하였다. 또한 phenol층은 단백질을 분리하는데 사용하였다. 수층은 DNA, RNA를 추출하기 위해서 -20°C의 2-ethoxyethanol을 동량 가하여 잘교반하고 5,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 이 때 생성된 침전물을 DNA 분획으로 사용하였으며, 상동액은 RNA 분획으로 사용하였다.

DNA의 분리—위에서 얻은 DNA 분획을 진공상태에서 전조시킨 후 10 mM TE 완충액(pH 8.0) 2 ml를 가하여 저온실에 설치된 rotary shaker에 올려 놓고 녹을 때까지 서서히 진탕하였다. DNA 분획을 완충액에 녹인 후 남아있는 RNA를 제거하기 위해 50 µg/ml이 되도록 ribonuclease A를 가하고 37°C에서

15분간 incubation하여 남아있는 RNA를 제거하였다. Ribonuclease A와 남아있는 단백질을 제거하기 위해 phenol 추출용액으로 추출하여 동량의 2-ethoxyethanol로 DNA를 침전시켰다. 그 후 용매를 건조하고 2 ml의 10 mM TE 완충액(pH 8.0)에 녹였으며 이 용액 일정량을 취하여 DNA 정량과 방사선 동위원소량을 측정하는데 사용하였다.

RNA의 분리—RNA는 시험관 등 실험기구에 있는 불순물에 의해 민감하게 반응하기 때문에 RNA 분리에 사용한 기구는 모두 살균하여 실험에 사용하였다. 앞에서 얻은 RNA 분획을 -20°C의 ethanol을 2배 용량 넣고 15,000×g에서 30분 원심분리하고 생성된 침전물을 DNA 분리방법과 같이 건조 용해한 후 RNA 정량과 방사선 동위원소량을 측정하였다.

단백질의 분리—앞에서 얻은 phenol층에 6% p-aminosalicylic acid를 가하고 잘교반하여 단백질을 추출하고, 다시 phenol층을 취하고 여기에 과량의 methanol을 첨가하여 다시 단백질을 침전시켰다. 이 단백질 분획을 methanol로 4번 acetone과 ether로 각각 1번씩 세척하고 5 mM 인산염완충액에 녹인 후에 함유되어 있는 단백질과 방사선 동위원소량을 측정하였다.

DNA 및 RNA의 정량²⁶⁾—10 mM TE 완충액용액에 녹인 DNA, RNA 용액을 260 nm에서 흡광도를 측정 (spectrophotometer : Shimadzu model UV-240, Japan)하여 1일 때를 50 µg/ml로 환산하여 측정하였다.

단백질의 정량—단백질의 함량은 Lowry method²⁷⁾로 bovine serum albumin(B.S.A)를 standard로 하여 정량하였다.

방사선 동위원소량의 측정—Liquid scintillation counter(LKB 1211 rackbeta, U.S.A.)를 사용하여 DMN에 의해 adduct된 DNA, RNA 및 단백질에 대한 방사선 동위원소량을 10분간 측정하였다. Scintillation fluid의 조성은 PPO 5.5g POPOP 0.1g, toluene 667 ml, triton X-100 333 ml을 녹여 사용하였으며, scintillation fluid 9 ml에 DNA, RNA, 단백질용액 각각 1 ml를 첨가하여 cpm 값을 측정하였다. 특히 오염으로 인한 cpm 값의 오차를 줄이기 위해 scintillation vial은 모두 새 것을 사용하였다.

음성실험대조군의 측정—전투여약물과 DMN을 투여하지 않은 장기의 DNA, RNA 및 단백질을 위와 같은 방법으로 분리 정제하여 방사선 동위원소량

Table I—Radioactivity of negative control in purified DNA, RNA and protein.^{a)}

purified macromolecule	cpm \pm standard deviation		
	Liver	Brain	Pancreas
DNA	38.7 \pm 13.2	31.3 \pm 9.0	29.8 \pm 1.9
RNA	39.7 \pm 16.5	35.1 \pm 13.5	18.0 \pm 1.3
Protein	77.6 \pm 5.3	39.3 \pm 6.7	30.7 \pm 2.2

a) Seven samples were used for background level radioactivity.

(cpm)을 측정하고 양성대조군과 각 약물투여군의 각 장기에서 DNA, RNA 및 단백질을 분리하여 각각의 값(cpm)에서 감하여 줌으로써 절대 cpm을 산출하고, pmole/mg content와 CBI를 계산하는데 사용하였다. 음성실험대조군의 cpm치는 Table I과 같다.

pmole/mg content의 산출—DNA, RNA 및 단백질에 1 mg에 대한 DMN adduct량을 정량적으로 비교하기 위해 pmole/mg content로 환산하였다. 1 Ci=2.2 \times 10¹² dpm이고 15 mCi/mmole의 DMN을 사용하였으므로 DMN에 의해 adduct된 methyl기의 방사선동위원소 양(cpm)을 mole로 계산하면 다음과 같다.

$$1 \text{ dpm} = \frac{1}{2.2 \times 10^{12}} \text{ Ci이며}$$

$$= \frac{1}{2.2 \times 10^{12} \times 15} \text{ mole이다.} \quad (1)$$

실험에 사용한 liquid scintillation counter의 efficiency는 70%이므로

$$1 \text{ cpm} = \text{dpm} \times 0.7 \quad (2)$$

$$(1), (2)를 결합하면 1 cpm = \frac{0.7}{2.2 \times 10^{12} \times 15} \text{ mole}$$

즉, 1 cpm = 2.12×10^{-14} mole이 산출된다.

위와 같은 방법으로 sample의 cpm값을 pmole로 계산하여 각 content의 정량한 값을 나누어 줌으로써 pmole/mg content를 산출하였다.

CBI의 측정

CBI = $\frac{\text{damage to DNA}}{\text{dose}}$ 로 정의되며 Lutz²⁸⁾의 방법대로 cpm으로부터 환산하였다.

통계처리—통계학적 처리는 student's t-test를 사용하여 유의성을 검정하였으며 모든 수치는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다.

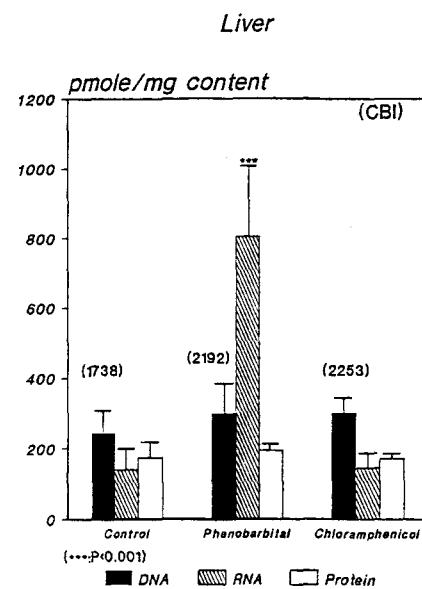


Fig. 1—Effect of phenobarbital and chloramphenicol to DNA, RNA and protein damage in mouse liver.

Numbers in parenthesis and bars are CBI value and standard deviation.

***p<0.001

표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

DMN의 손상에 대한 Phenobarbital의 영향—Phenobarbital을 전투여함으로써 간의 RNA가 대조군보다 유의성있게 5.8배 더 손상되었으나(Fig. 1), 뇌에서는 오히려 대조군의 21.1% 정도로 유의성있게 손상되는 정도가 감소되었다(Fig. 2). 또한 뇌의 DNA 손상이 phenobarbital의 투여로 인하여 6.95배 대조군보다 증가되었다(Fig. 2). Barbiturate류는 간 약물 대사효소계에서 cytochrome P-450과 결합하여 기질의 biotransformation을 저해하며, 간 smooth endoplasmic reticulum의 효소, 단백질 및 지방성분의 현저한 증가를 일으킨다.²⁰⁾ Klaunig 등²⁹⁾은 생후 15일 된 웅성 B6C351마우스에 DMN(5 µg/g body weight)을 i.p.로 한번 투여한 후에 500 mg/ml 농도의 phenobarbital을 24주 동안 투여하였을 때 간 adenoma 발생율이 DMN만 투여한 대조군보다 크게 증가하였음을

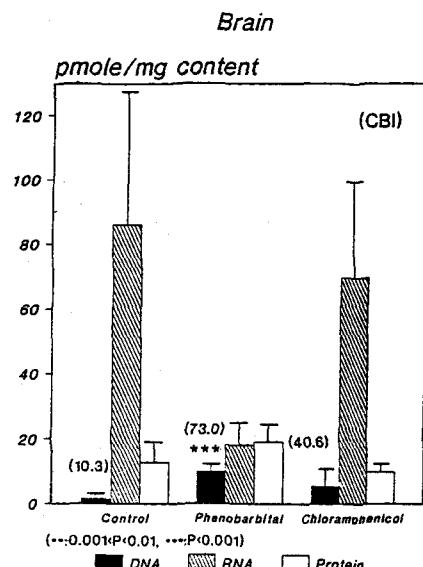


Fig. 2—Effect of phenobarbital and chloramphenicol to DNA, RNA and protein damage in mouse brain.

Numbers in parenthesis and bars are CBI value and standard deviation.

0.001<p<0.01, *p<0.001

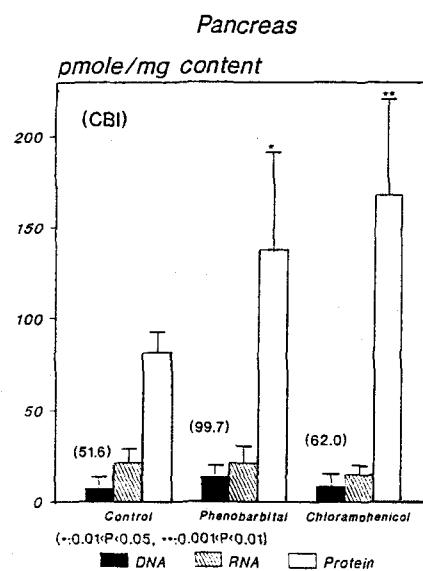


Fig. 3—Effect of phenobarbital and chloramphenicol to DNA, RNA and protein damage in mouse pancreas.

Numbers in parenthesis and bars are CBI value and standard deviation.

*0.01<p<0.05, **0.001<p<0.01

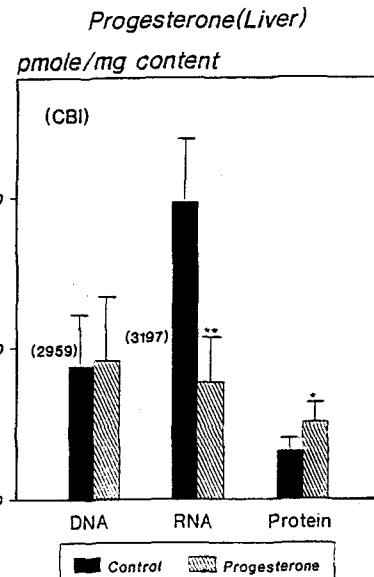


Fig. 4—Effect of progesterone to DNA, RNA and protein damage in mouse liver.

Numbers in parenthesis and bars are CBI value and standard deviation.

***p<0.001

보고하였다. 그러나 이와는 반대로 diethylnitrosamine으로 처치한 마우스에서 간장해가 phenobarbital의 투여로 유의성있게 저해됨도 보고되었으며³⁰⁾ Weghorst 등³¹⁾은 생후 15일된 3종류의 마우스(C57Bl, C3H, B6C351)에서 5 µg의 DMN을 투여하여 DNA에 손상을 준 후에 phenobarbital을 24주 동안 식수를 통해 투여하였을 때 종차이에 따라 종양의 발생율이 큰 차이가 있음을 보고하였다. 이상의 논문에서 보면 발암에 관한 phenobarbital의 작용에 대해 서로 다른 결과가 보고되었으나, 본 실험에서는 간의 RNA 및 뇌의 DNA 손상이 유의성 있게 증가됨으로써 phenobarbital이 간 adenoma의 발생을 증가시킨다는 Klau-nig 등²⁹⁾의 보고와 일치하였다.

DMN의 손상에 대한 Chloramphenicol의 영향—Chloramphenicol 투여는 간, 뇌 및 췌장의 DNA, RNA 손상에는 큰 영향이 없었으나 췌장의 단백질손상은 대조군보다 유의성있게 2배 정도 증가되었다(Fig. 3). 이 약물은 간의 microsome 효소를 저해함으로서 CCl₄의 독성으로부터 간을 보호하지만,²⁰⁾ 매일 25 mg/kg body weight의 chloramphenicol를 투여하면 “gray

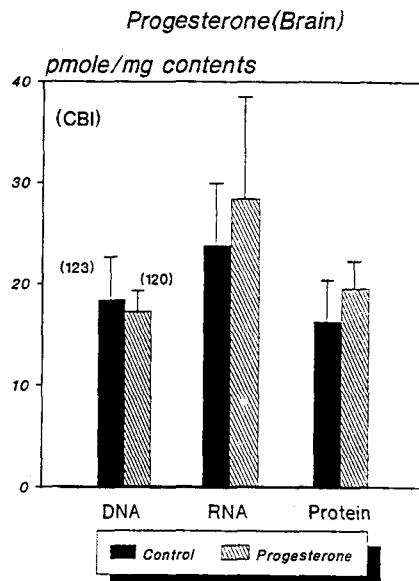


Fig. 5—Effect of progesterone to DNA, RNA and protein damage in mouse brain.

Numbers in parenthesis and bars are CBI value and standard deviation.

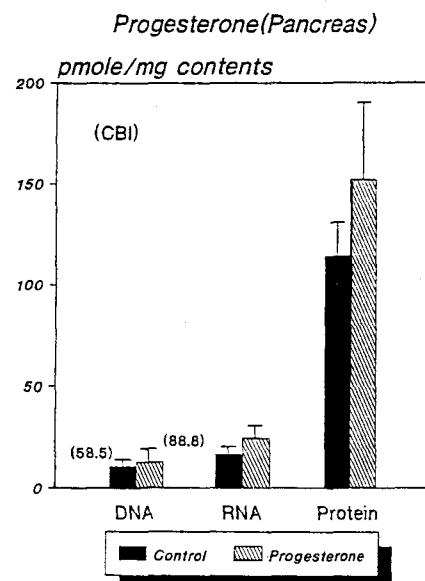


Fig. 6—Effect of progesterone to DNA, RNA and protein damage in mouse pancreas.

Numbers in parenthesis and bars are CBI value and standard deviation.

* $0.01 < p < 0.05$

syndrome” 질환[이] 나타나며 복부팽창, 저온증, 불규칙적인 호흡, 순환장해를 일으켜 결국에는 죽음에 이르게된다고 보고되어 있다.³²⁾ 그러나 발암성에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 알려져 있지 않으므로 DMN demethylase에 대한 생화학적 연구가 더 수행되어야 할 것이다.

DMN의 손상에 대한 Progesterone의 영향—Progesterone을 암컷에 전투여하였을 때 성별의 차이에 따라 DMN의 부착정도가 아주 큰 차이가 있음을 나타내었다. 즉 간 및 뇌에서 DNA에 부착되는 DMN의 양은 암컷이 수컷보다 두배 이상 높음을 나타내어 쉽게 DMN에 의해 간이 손상될 수 있음을 나타내었다. 그러나 체장 DNA에서는 큰 차이가 없었다(Fig. 6). 또한 간의 DNA에서는 암컷이 수컷보다 약 7배 이상 DMN이 부착되었으나 뇌의 RNA에서는 수컷이 암컷보다 3.5배 이상 부착되는 정반대 현상이 관찰되었다. 즉 암수의 차이에 따라 분비되는 성호르몬이 다르므로 progesterone에 대한 반응도 다르게 나타난 것으로 사료된다. 각 고분자 물질에 대해 비교를 해 보면 progesterone에 의한 RNA 손상은 간과 체장에서 서로 상반된 결과를 얻었으나 단백질 손상은 각각

1.59배, 1.32배 증가한 것으로 나타나 주로 단백질 손상에 관여하는 것으로 밝혀졌다. Tomatis 등³³⁾의 보고에 의하면 alkylating agent의 단독투여로 야기되는 간암발생은 암컷에 있어 좀더 긴 잠복기를 가지고 있으며, 이러한 현상은 diethylnitrosamine 뿐만 아니라 직접 DNA에 작용하는 발암제의 경우에서도 관찰되었으며, 그 이유는 암컷과 수컷의 지속적인 호르몬지배 차이에 기인한다고 보고하였다.

장기간의 estrogen 투여에 의해 hamster 신장에 특이한 수용체의 발현으로 생기는 종양은 합성 progesterone이나 천연 progesterone 투여로 경감될 수 있으며,^{34,35)} 또한 progesterone이 많은 환경물질(ex. DDT : dichlorodiphenyltrichloroethane, DMBA : dimethylbenz[a]anthracene, PCBs : polychlorinated biphenyls etc.)과 결합하여 초기단계의 독성작용에 관여하는 estrogen 수용체를 감소시켜 그 물질에 대한 독성작용을 증가시킨다는 보고도 있었다.²¹⁾ 따라서 progesterone이 DMN과 결합하여 estrogen 수용체를 감소시켜 독성작용을 감소시킬 것으로 추측되며 그 정확한 반응기작은 수용체에 대한 연구가 더 수

행되어야 가능할 것이다.

결 론

1. Chloramphenicol 투여로 간, 뇌 및 췌장의 DNA, RNA 손상에는 큰 영향이 없었으나 췌장의 단백질 손상은 대조군보다 유의성 있게 2배 정도 증가되었다.

2. Phenobarbital의 투여로 간의 RNA가 대조군보다 유의성 있게 5.8배 더 손상되었으나 뇌에서는 오히려 대조군의 21.1% 정도로 유의성 있게 손상되는 정도가 감소되었다. 또한 뇌에서의 DNA 손상은 6.96배 유의성 있게 증가하였으며, 췌장 단백질의 손상은 1.68배 증가하였다. 그러나 간 및 췌장의 DNA 손상에는 큰 변화가 없었다.

3. Progesterone의 투여는 주로 간 및 췌장에 영향을 미치며, 간의 RNA 손상을 감소시킨 반면 췌장의 RNA 손상은 오히려 증가시켰다. Progesterone에 의해 단백질 손상은 간, 췌장 각각 1.59배, 1.32배 유의성 있게 증가시켰다. 또한 성별에 대한 DMN의 손상 정도는 숫컷보다 암컷에서 크게 증가되었다.

문 헌

- 1) Fong, L.Y.Y., Lin, H.J. and Lee, C.L.H.: Methylation of DNA in target and non-target organs of the rat with methylbenzylnitrosamine and dimethylnitrosamine. *Int. J. Cancer* **23**, 679(1979).
- 2) Magee, P.N. and Barner, J.M.: The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *Br. J. Cancer* **10**, 114 (1956).
- 3) Montesano, R. and Magee, P.N.: Metabolism of nitrosamines by rat and hamster tissue slices in vitro. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* **12**, 14(1971).
- 4) Magee, P.N., Montesano, R. and Preussman, R.: N-Nitroso compounds and related carcinogens. *ACS(Am. Chem. Soc.) Monogr.* **173**, 491(1976).
- 5) Kawanish, T., Ohno, Y., Takahashi, A., Nakadate, M., Takanaka, A., Kasuya, Y. and Omori, Y.: Effect of phenobarbital and 3-methylcholanthrene on the hepatic nitrosodimethylamine, N-nitrosomethylbutylamine and N-nitrosomethylbenzylamine. *Cancer Letters* **20**, 157(1983).
- 6) Magee, P.N. and Farber, E.: Toxic liver injury and carcinogenesis. *Biochem. J.* **83**, 114(1962).
- 7) Lee, K.Y. and Goodal, C.M.: Methylation of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid and tumour induction in livers of hypophysectomized rat treated with dimethylnitrosamine. *Biochem. J.* **106**, 767 (1968).
- 8) Swann, P.F. and Magee, P.N.: Nitrosamine-induced carcinogenesis. *Biochem. J.* **110**, 39(1968).
- 9) Craddock, V.M.: Stability of deoxyribonucleic acid methylated in the intact animal by administration of dimethylnitrosamine. *Biochem. J.* **111**, 479(1969).
- 10) O'Connor, P.J., Capps, M.J. and Craig, A.W.: Comparative studies of the hepatocarcinogen N,N-dimethylnitrosamine in vivo; Reaction sites in rat liver DNA and the significance of their relative stabilities. *Br. J. Cancer* **27**, 153(1973).
- 11) Lawley, P.D.: *Chemical Carcinogens* (ACS Monograph Series No.173), American Chemical Society, Washington DC., p.83(1976).
- 12) Stumpf, R., Margison, G.P., Montesano, R. and Pegg, A.E.: Formation and loss of alkylated purines from DNA of hamster liver after administration of dimethylnitrosamine. *Cancer Research* **39**, 50(1979).
- 13) Pegg, A.E., Dolan, M.E., Scicchitano, D. and Morimoto, K.: Studies of repair of O⁶-alkylguanine and O⁴-alkylthymine in DNA by alkyltransferase from mammalian cells and bacteria. *Environmental Health Perspectives* **62**, 109(1985).
- 14) Klaassen, C.D., Amdur, M.O. and Doull, J.: *Casarett and Doull's Toxicology* 3rd ed., Macmillan publishing Co., New York, p.99(1980).
- 15) Weisburger, J.H. and Williams, G.M.: The decision-point approach for systematic carcinogen testing. *Fd. Cosmet. Toxicol.* **19**, 561(1981).
- 16) Fine, D.F.: *Nitrosamines and Human cancer* (Banbury Report 12), Cold Spring Harbor Laboratory, New York, p.199(1982).
- 17) Uchida, E. and Hirono, I.: Effect of phenobarbital on induction of liver and lung tumors by dimethylnitrosamine in newborn mice. *Carcinogenesis* **4**, 1021(1979).
- 18) Pitot, H.C. and Sirica, A.E.: The stages of initiation

- and promotion in hepatocarcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.* **605**, 191(1980).
- 19) Pereira, M.A., Klaunig, J.E., Herren-Freund, S.L. and Ruch, R.J.: Effect of phenobarbital on the development of liver tumors in juvenile and adult mice. *J. Natl. Cancer Inst.* **77**, 449(1986).
- 20) Vesselinovitch, S.D. and Mihailovich, N.: Modifying effect of synthetic steroid on the development of liver tumors induced by diethylnitrosamine. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **73**, 91(1982).
- 21) Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W. and Murad, F.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics* 8th ed., Macmillan Publishing Co., New York, p. 358, 1019, 1397(1985).
- 22) Hill, D.H., Tzu-Wen Shih, Jhonston, T.P. and St-ruck, R.F.: Macromolecular binding metabolism of the carcinogen 1,2-dibromoethane. *Cancer Research* **38**, 2438(1978).
- 23) Maniatis, T., Fisch, E.F. and Sambrook, J.: *Molecular cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York p.B.20, 5, 81(1989).
- 24) Pegg, A.E.: Alkylation of rat liver DNA by dimethylnitrosamine; Effect of dosage on O⁶-methylguanine levels. *J. Natl. Cancer Inst.* **58**(3), 681(1977).
- 25) Kinoshita, N. and Gelboin, H.V.: Aryl hydrocarbon hydroxylase and polycyclic hydrocarbon tumorigenesis and macromolecule binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* **69**, 824(1972).
- 26) Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. and Struhl, K.: *Current protocols in molecular biology*, John Wiley & Sons, New York, Section 2.2.1(1987).
- 27) Lowry, O.H., Rosebrough, N., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin-Phe-nol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265(1951).
- 28) Lutz, W.K.: In vitro covalent binding of organic chemicals to DNA as a quantitative indicator in the process of chemical carcinogenesis. *Mutation Research* **65**, 289(1979).
- 29) Klaunig, J.E., Weghorst, C.M. and Pereira, M.A.: Effect of phenobarbital on diethylnitrosamine and dimethylnitrosamine induced hepatocellular tumor in male B6C3F1 mice. *Cancer Letters* **42**, 133(1988).
- 30) Diwan, B.A., Rice, J.A., Ward, J.M., Ohshima, M. and Lynch, P.H.: Inhibition by phenobarbital and lack of effect of amobarbital on the development of liver tumors induced by N-nitrosodimethylamine in juvenile B6C3F1 mice. *Cancer Letters* **23**, 223(1984).
- 31) Wegborst, C.M., Pereira, M.A. and Klaunig, J.E.: Strain differences in hepatic tumor promotion by phenobarbital in diethylnitrosamine- and dimethylnitrosamine- initiated infant male. *Carcinogenesis* **10**(8), 1409(1989).
- 32) Reynold, J.E.F.: Martindale(The Extra Pharmacopoeia) 29th ed., The Pharmaceutical Press, London, p.186(1989).
- 33) Tomatis, L. and Mohr, U.: *Transplacental Carcinogenesis*, IARC Sci. Publ. No.4, Lyon, p.71(1973).
- 34) Li, J.J., Cuthbertson, T.L. and Li, S.A.: Inhibition of estrogen carcinogenesis in Syrian golden hamster kidney by antiestrogen. *J. Natl. Cancer Inst.* **64**, 795(1980).
- 35) Li, J.J. and Li, S.A.: Estrogen-induced progeste- rone receptor in the Syrian hamster kidney. *Endocrinology* **108**, 1751(1981).