

배양임파구에서 카드뮴, 셀레늄 및 아연 투여가 자매염색분체교환에 미치는 영향

이연경 · 조영채

충남대학교 의과대학 예방의학교실

Sister Chromatid Exchanges(SCE) in Cultured Human Lymphocytes Induced by Cadmium, Selenium and Zinc

Yeon-Kyeng Lee and Young-Chae Cho

Dept. of Preventive Medicine and Public health, College of medicine
Chungnam National University

ABSTRACT

To evaluate the cytogenetic toxicity of cadmium and the reducing effect of selenium or zinc on cadmium toxicity, the induction of SCEs in cultured human lymphocytes by the concentration of 0.5 μM to 16.0 μM of cadmium chloride and those of cadmium chloride combined with sodium selenite or zinc chloride 1.2 μM , respectively was investigated. The induction of SCEs by cadmium chloride in the range of 0.5 μM to 16.0 μM increased in a dose-dependent manner. A notable increase in SCEs by sodium selenite as well as zinc chloride was also observed. However, the frequency of SCEs by cadmium chloride was inhibited by the simultaneous addition of sodium selenite and zinc chloride 1.2 μM , respectively. The mitotic index significantly decreased in higher concentration of cadmium chloride but not was significantly different in any concentration of cadmium chloride with the simultaneous addition of sodium selenite or zinc chloride. The results showed that the decreased additive SCE effect was observed when induced by the combined treatment which could suggest that sodium selenite and zinc chloride have a protective effect on cadmium chloride.

Keywords : Cadmium, Selenium, Zinc, Sister chromatid exchanges

I. 서 론

산업의 발달과 함께 사용량이 증가되고 있는 중금속은 분해되지 않는 환경내 잔류성과 축적성으로 인해 생태계의 파괴 및 인간의 건강에 유해한 영향을 미치는 환경오염물질로서 관심의 대상이 되어오고 있다.¹⁾

많은 중금속 중 카드뮴은 내식성, 연성, 전성이 있어 자동차공업에서 원자료에 이르기까지 산업 전반에 다양하게 이용되고 있으며, 농약과 페인트에도 함유되어 있어 직업적 폭로뿐만 아니라 환경오염에 의한 일반주민의 폭로도 증가하고 있다. 뿐만 아니라 카드뮴은 음식물 섭취와 흡연으로도 체내에 유입

되며, 1일 섭취하는 음식물에는 약 1-50 μg 정도의 카드뮴이, 한 개피의 담배에는 약 1-2 μg 의 카드뮴이 함유되어 있는 것으로 보고되었다.²⁾

생체내에 흡수된 카드뮴의 생물학적 반감기는 10-30년으로 타 중금속에 비해 대단히 긴 반감기를 갖고 있어 체내에 장기간 축적되며, 급만성중독으로 신기능장애, 간조직손상, 중추신경장애, 고혈압, 골연화증 등을 유발하는 것으로 알려져 있으며³⁾, 카드뮴에 만성노출시킨 동물실험에서 고환조직손상, 생식독작용 및 발암작용이 보고된 바 있고⁴⁾, 1952년 일본의 아연광산에서 배출된 카드뮴에 오염된 물과 농작물을 섭취하여 발생된 이타이이타이병(Itai-Itai disease)은 대표적인 카드뮴중독 사건으로 신장

기능 장애, 전신통증 등의 증상을 보였다.⁵⁾

셀레늄은 지각내에 비교적 소량으로 존재하는 비금속원소로 최근에 발암억제에 대한 생물학적 역할로 인해 많은 관심을 불러 일으키고 있으며, 셀레늄의 수은 등 중금속에 대한 독성 감소 작용과 수은과 동시 투여군에서 발암 및 변이원성물질에 의한 세포독성에 민감하게 반응한다고 알려진 자매염색분체교환(Sister chromatid exchanges, 이하 SCE로 표기) 발현빈도의 현저한 감소를 보고한 조사들이 있으며^{6,7)}, 카드뮴에 대한 셀레늄의 작용으로 SCE빈도의 감소를 나타내는 보고와 두 금속간의 길항작용을 보여주는 보고들이 있다.⁸⁾

아연은 고등생물의 체내 필수 금속으로 결핍시 건강장애의 요인으로, Parkizek⁹⁾와 Gunn 등¹⁰⁾의 카드뮴에 의한 정소피사가 아연의 투여에 의해 억제된다는 보고, Webb¹¹⁾의 아연의 투여가 금속결합단백질인 Metallothionein을 유도하여 카드뮴에 의한 정소종양발생을 저지한다는 보고 등 아연의 카드뮴에 대한 긍정적인 결과들이 보고되었지만¹²⁾, 카드뮴에 대한 아연의 영향을 세포유전학적 측면에서 살펴본 연구는 많지 않다.

실제로 작업환경이나 생활환경에서 중금속에 노출되는 경우 순수한 한가지의 금속에 노출되기 보다는 두 종류 이상의 금속에 복합적으로 노출되는 경우가 많기 때문에 금속 단독작용에 대한 연구뿐만 아니라 금속간의 상호복합 작용에 대한 연구가 필요하리라 생각되며, 환경오염물질로서 인체에 미치는 영향에 관해 관심이 높은 카드뮴에 대하여 셀레늄과 아연이 어떠한 영향을 미치는지를 세포독성학적 측면에서 알아 볼 필요성도 있다고 생각된다.

환경돌연변이물질에 대한 관심이 고조되고 돌연변이 유발물질과 발암물질 사이에 강한 관계가 존재한다는 인식¹³⁾으로 인해 환경유해물질의 세포독성이외에도 변이원성(mutagenicity)이나 발암성(carcinogenicity) 등 세포유전학적인 피해가 더욱 더 문제시되고 있다. 화학물질의 이러한 세포유전학적 독성을 알아보기 위한 시험법중 자매염색분체교환¹⁴⁾은 harlequin chromosome에 의해 쉽게 관찰되어지는 변이원성 발암성검사로, 이는 세포분열의 간기(synthesis phase : S기)에 유전자 복제의 반보존적성격(semi-conservative model of DNA replication)에 의한 두 염색분체 사이의 상호교환 현상에 의하는 것으로 1958년 Taylor 등¹⁵⁾에 의해 3중수소로 표시된 DNA의 thymidine(H^3 -thymidine)을 방사선자동사

진법(autoradiography)으로 최초로 관찰한 이래, Latt¹⁶⁾와 Perry 등¹⁷⁾은 BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine)를 사용하여 손쉽게 관찰되도록 하였고, Hoechst 33258을 이용한 FPG(fluorescence-plus-Giemsa)염색법이 Perry와 Wolff¹⁸⁾에 의해 개발되어, 최근에는 유기용제 및 화학물질의 발암성, 변이원성검사로 활용되게 되었다.

현재까지의 중금속에 대한 연구는 중금속중독에 대해 원자흡광법 및 가스크로마토그래피 등의 분석방법을 이용하여 중금속농도를 측정하여 진단과 치료에 유용한 정보를 제공해 주었으나 이와 같은 방법들에 의한 분석결과는 환경 및 생체조직에 축적된 중금속 정도를 파악할 뿐이어서 뚜렷한 중독증상이 나타나지 않는 한, 측정된 농도의 중금속이 생체내에서 어느 정도의 독작용을 나타내는지 알 수가 없다. 또한, 카드뮴의 인체에 대한 영향과 카드뮴과 다른 중금속과의 상호작용에 대한 연구는 체내흡수, 장기내 축적농도, 배설, 혈액학치 및 효소활성치의 변화 등을 살펴본 연구가 대부분으로 이를 세포유전학적인 측면에서 살펴본 연구는 많지 않다.

본 연구는 일종의 변이원성검사인 SCE빈도를 조사함으로써 카드뮴이 SCE빈도에 미치는 유전학적인 독성과 셀레늄과 아연이 각각 카드뮴의 세포유전학적인 독성에 어느 정도의 영향을 미치는지 그 변화를 알아봄으로서 중금속의 독성기전 및 관리에 보탬이 되고자 실시하였다.

II. 조사대상 및 방법

1. 혈액채취

배양을 위한 혈액은 담배를 피우지 않는 만 21-23세의 건강한 남학생을 대상으로 heparin처리된 멸균주사기를 사용하여 전완혈액 6cc를 채혈하였으며 채혈 후 바로 검사에 이용하였다.

2. 세포배양

세포배양을 위한 배지는 RPMI 1640(GIBCO)에 sodiumbicarbonate(최종농도2.0g/l, SIGMA)와 25 mM HEPES(SIGMA)를 가하여 pH 7.2-7.3으로 적정하였다. 56 water bath에서 30분간 불활성화 처리한 15% fetal bovine serum(FBS, GIBCO)을 가하고 penicillin-streptomycin(100U/ml-100 µg/ml, GIBCO)을 첨가하였다. 세포 분열 유도를 위하여 1%의 phytohemagglutinin(PHA-M, DIFCO)을

가한 배양액 9 ml에 각각 1cc의 전혈(whole blood)을 가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 총 7시간 배양하였다.

중금속은 카드뮴(CdCl₂, Junsei Chemical Co., Inc), 셀레늄(Na₂O₃Se, Junsei Chemical Co., Inc), 아연(ZnCl₂, Junsei Chemical Co., Inc)을 사용하였다. 카드뮴은 16.0 µM의 카드뮴을 8.0 µM, 4.0 µM, 2.0 µM, 1.0 µM, 0.5 µM의 농도로 희석하고, 아연 및 셀레늄은 각각 1.2 µM의 농도로 희석하여 카드뮴 단독 투여군과 카드뮴과 셀레늄 동시투여군, 카드뮴과 아연 동시투여군으로 나누어 배양 24시간 후에 가하고, 대조염색을 위해 BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine, SIGMA)를 최종농도 10 µM로 함께 가하였으며, 대조군 역시 중금속 첨가를 제외한 모든 시약은 실험군과 똑같이 첨가하였다. 또한, BrdU substituted DNA의 photolysis를 방지하기 위하여 모든 실험조작은 빛이 차단된 상태에서 실시하였고, 배양기도 알루미늄 호일로 감쌌다.

3. SCE 빈도 관찰

배양한 세포를 수거하기 2시간 전에 Colcemid (GIBCO)를 최종농도 0.1 µg/ml가 되도록 첨가하여 배양기를 부드럽게 흔들어준 후, 37°C, 5% CO₂ incubator에서 2시간 더 배양하였다. 72시간의 배양이 끝나면 배양액을 conical tube(Falcon, 15 ml)에 옮겨 800 rpm에서 6분간 원심분리시킨 후 상층액을 제거하였다. 37°C water bath에서 예열된 0.075M KCl로 세포를 조심스럽게 부유한 후 water bath에서 10분간 저장액 처리를 하여 800 rpm에서 8분간 원심분리시켜 상층액을 제거하였다. 이후 신선한 고정액(methanol : acetic acid, glacial=3:1)을 조심스럽게 적당량(8 ml)을 가하여 800 rpm에서 8분간 원심분리하여 세포를 수거하는데, 이와같은 방법으로 3회 더 고정하며 마지막 고정에서 침전된 세포의 수에 따라 고정액을 0.5-1 ml 첨가하여 파스퇴르 피펫으로 침전된 세포를 부유시킨 후 10-20 cm의 높이에서 미리 기름기를 제거한 슬라이드 위에 세포 부유액을 3-4방울 떨어뜨려 알콜램프에 화염시킨 후 공기건조하였다.

SCE를 관찰하기 위해 Perry와 Wolff의 FPG (fluorescence-plus-Giemsa)염색방법을 이용하여 슬라이드를 Hoechst 33258(0.5 µg/ml in sorenson's buffer, SIGMA)로 25분간 염색하여 3차 증류수로 씻어 발린 후, M/15 sorenson's buffer(pH 6,

8) 용액을 점적하여 슬라이드로 부터 25 cm 높이에서 254-nm UV mineralogic lamp로 20-30분간 조사하였다. 다시 슬라이드를 3차 증류수로 씻고, 60°C에서 2×SSC용액에 2시간 침지한 후 탈이온수로 씻어 10% Giemsa solution(in sorenson's buffer)에서 15분간 염색하였다.

SCE빈도는 1000배 광학현미경 하에서 각각 30개 이상의 2차 분열 중기(secondary metaphase)의 염색체만을 찾아 관찰하여 세포당 SCE빈도를 산출하여 복로군과 대조군을 비교하였으며, 동원체 부위에서 일어난 SCE는 SCE빈도에 포함시키지 않았다.

세포분열지수(mitotic index)는 1000배의 광학현미경 하에서 적어도 500개 이상의 세포를 연속적으로 관찰하여 그중에서 분열 중인 세포의 수를 세어 백분율(%)로 나타내었다.

4. 자료의 통계처리

실험에서 얻은 모든 자료는 SPSS/PC 통계 프로그램을 이용하여 처리하였고 대조군과 실험군간의 유의성 검증은 Student's t-test를 이용하여 분석하였다.

III. 결 과

1. SCE빈도

카드뮴이 첨가되지 않은 대조군에서의 SCE 빈도는 5.07 ± 0.83 이었으며 카드뮴 농도 0.5 µM과 1.0 µM에서의 SCE빈도는 각각 5.17 ± 1.53 과 5.73 ± 1.36 으로 대조군과 차이가 크지 않았으나, 카드뮴 농도 2.0 µM 이상에서의 SCE빈도는 7.30 ± 2.00 이상으로 대조군에 비해 급격히 증가함이 관찰되었다($p < 0.01$). 그러나 8.0 µM 이상의 농도에서는 염색체가 뭉쳐져 있고 염색상도 흐렸으며, 최고농도인 16.0 µM에서는 대부분의 분열세포가 첫번째 분열 중기세포(first-division mitosis metaphase)로 관찰되었다.

1.2 µM의 셀레늄 단독 투여군에서의 SCE빈도는 6.40 ± 1.73 으로 대조군에 비해 유의하게 높았고($p < 0.01$), 1.2 µM의 아연을 단독투여한 군에서의 SCE빈도도 7.13 ± 1.76 으로 대조군에 비해 현저히 높았다($p < 0.01$).

카드뮴 각 농도에 1.2 µM의 셀레늄을 동시투여한 군에서의 SCE빈도는 카드뮴의 농도 증가에 비례하여 증가하는 경향이었으며, 0.5 µM 카드뮴 농도에서는 카드뮴 단독투여군보다 약간 높은 SCE빈도를

Table 1. The frequency of SCEs in lymphocytes treated with Cd and Cd combined with Se or Zn 1.2 μ M, respectively

Concentration of Cd	SCEs		
	Cd only	Cd+Se ^{a)}	Cd+Zn ^{b)}
Control	5.07±0.83 ^{c)}	6.40±1.73 ^{**d)}	7.13±1.76 ^{**e)}
0.5	5.17±1.53	5.43±1.31	4.87±1.28
1.0	5.73±1.36	5.47±1.17	6.10±1.45
2.0	7.30±2.00 ^{**}	6.56±1.63 [*]	6.47±1.50 [*]
4.0	7.69±1.64 ^{**}	6.74±1.51 [*]	6.27±1.23 [*]
8.0	8.50±1.68 ^{**}	7.87±1.78 [*]	7.83±1.56 [*]
16.0	8.43±2.05 ^{**}	8.07±1.84 ^{**}	8.17±1.82 ^{**}

^{a)}Cd combined with Se 1.2 μ M, ^{b)}Cd combined with Zn 1.2 μ M, ^{c)}Not treated with Cd, ^{d)}Treated with Se 1.2 μ M only, ^{e)}Treated with Zn 1.2 μ M only

*p<0.05, **p<0.01: Significantly different from control group, ¹⁾p<0.05: Significantly different from Cd only group

보였으나 통계적으로 유의성은 없었다.

카드뮴 농도 1.0 μ M부터 16.0 μ M에서의 셀레늄 동시투여군은 카드뮴 단독투여군에 비해 약간 낮은 SCE빈도가 관찰되었으나, 카드뮴 농도 2.0 μ M과 4.0 μ M의 동시투여군에서만 단독투여군보다 SCE빈도가 낮았고(p<0.05), 카드뮴 농도 2.0 μ M이상의 셀레늄 동시투여군에서의 SCE빈도는 대조군보다 유의하게 높았다(p<0.05, p<0.01).

카드뮴과 아연 동시투여군에서의 SCE빈도는 카드뮴 단독투여군보다 약간 낮은 빈도를 보였으나, 4.0 μ M과 8.0 μ M 농도에서만 유의한 차이를 보였고(p<0.05) 기타 다른 농도군에서는 유의한 차이가 없었고, 대조군과 비교해 보면 카드뮴 농도 2.0 μ M 이상의 아연 동시투여군에서 대조군보다 유의하게 높은 SCE빈도를 보였다(p<0.05, p<0.01)(Table 1).

2. 세포분열지수(mitotic index)

세포분열지수(mitotic index)는 대조군에서 5.28%로 비교적 활발한 분열을 보였으나 카드뮴 투여군에서는 카드뮴 농도에 비례하여 감소하는 경향이었으며, 2.0 μ M 이상의 농도에서 대조군에 비해 급격한 감소가 관찰되었다(p<0.01).

1.2 μ M의 셀레늄 단독 투여군과 1.2 μ M의 아연 단독투여 군에서 세포분열지수도 대조군보다 유의하게 낮았다(p<0.05).

카드뮴과 셀레늄 동시투여군에서의 세포분열지수는 카드뮴의 농도가 증가함에 따라 감소하였고 카드뮴 농도 4.0 μ M이상의 셀레늄 동시투여군에서는 대조군보다 유의하게 낮았으나(p<0.05, p<0.01), 카드뮴 단독투여군과 비교시에는 차이를 보이지 않았다.

Table 2. The mitotic index in lymphocytes treated with Cd and combined with Se or Zn 1.2 μ M, respectively

Concentration of Cd	Mitotic index(%)		
	Cd only	Cd+Se ^{a)}	Cd+Zn ^{b)}
Control	5.28 ^{c)}	3.16 ^{*d)}	2.56 ^{**e)}
0.5	3.36	3.04	3.84
1.0	3.04	3.04	2.80
2.0	2.96 [*]	2.16 [*]	2.68 [*]
4.0	2.28 [*]	2.06 [*]	1.62 [*]
8.0	1.08 ^{**}	1.84 [*]	1.88 [*]
16.0	1.02 ^{**}	1.20 ^{**}	1.42 ^{**}

^{a)}Cd combined with Se 1.2 μ M, ^{b)}Cd combined with Zn 1.2 μ M, ^{c)}Not treated with Cd, ^{d)}Treated with Se 1.2 μ M only, ^{e)}Treated with Zn 1.2 μ M only

*p<0.05, **p<0.01: Significantly different from control group

카드뮴과 아연 동시투여군에서의 세포분열지수는 1.42%에서 3.84%의 범위로 카드뮴 단독투여군과 비교시 유의한 차이가 관찰되지 않았으나, 카드뮴 농도 2.0 μ M 이상의 농도에서 대조군보다 유의하게 낮게 관찰되었다(p<0.05, p<0.01)(Table 2).

IV. 고 찰

환경오염물질 중 발암성이나 변이원성을 갖는 유해물질의 인체에 대한 세포유전학적인 영향을 조사하기 위하여 사용되는 SCE검사는 염색체의 수적 이상이나 구조이상과는 다른 형태의 DNA손상의 지표이며 염색체이상을 유발하지 않는 subtoxic dose에서도 SCE빈도의 증가를 보여 염색체이상보다 민

감도가 높은 것으로 알려져있고, Kato 등¹⁹⁾은 SCE가 염색체의 형태학적 이상을 유발하는 농도의 1/10-1/100에서도 유발한다고 하였다.

SCE분석은 세포분열중 DNA복제시 thymidine 염기위치에 그 유도체인 BrdU를 대치시켜 DNA나선구조의 한가닥은 BrdU가 위치하게 되고 다른 하나는 thymidine을 그대로 갖게 되어 2차분열이 시작하면 한쪽 염색분체는 DNA나선의 한가닥만 BrdU를 갖고 이의 자매염색분체는 두가닥 모두 BrdU로 대치되어 형광염료 및 Giemsa용액에 염색되지 않게 됨으로써 SCE가 일어났는지를 확인하게 해 준다.

그러나, SCE빈도는 SCE분석시 세포배양에 첨가되는 BrdU농도와 사용된 혈액량, 유사분열촉진제인 PHA의 농도에 의해서도 영향을 받는다는 보고와 혈액기증자간의 SCE의 기준수 역시 차이가 있을 수 있다는 보고가 있어 실험과정에서 첨가되는 여러 시약, 배양조건 등이 SCE빈도에 복합적으로 영향을 미치는 요인으로 작용됨이 분명하지만, 그 영향을 완전히 배제할 수 없으므로 그 영향을 최소화시킨 조건에서 정상인의 SCE발현빈도를 조사하여 이를 기준으로 SCE발현빈도의 증감을 비교하는 것이 현재까지의 흐름이다.

대조군의 SCE빈도는 박 등²⁰⁾의 8.78 ± 0.24 에서 최 등²¹⁾의 4.1 ± 0.26 까지 다양한 범위를 보이는데, 본 실험에서는 5.07 ± 0.83 으로 그 범위안에 들어가는 수치를 보였으며 이러한 차이는 배양시간이나 세포수거시간 등 실험자간의 차이에 의한 것으로 생각된다.

카드뮴에 의한 SCE발현빈도는 맹 등²²⁾과 Deaven 등²³⁾의 연구에서 카드뮴에 의한 SCE발현빈도가 유의하지 않다는 보고와 정 등²⁴⁾, Howard 등²⁵⁾, 고 등²⁶⁾의 카드뮴의 농도에 따라 SCE빈도의 유의한 증가를 보인다는 보고가 함께 있어 그 의견이 일치되지 않고 있다.

본 실험에서는 0.5 μM 에서 16.0 μM 까지의 카드뮴 농도에서 5.17-8.43의 SCE발현빈도로 0.5 μM 과 1.0 μM 의 저농도에서는 대조군과 유의하지 않은 SCE빈도를 보이나 2.0 μM 이상의 고농도에서는 카드뮴 농도의 증가에 따른 SCE빈도가 유의하게 증가되는 dose-dependent한 결과를 보였으며, 이는 Howard 등²⁵⁾, 고 등²⁶⁾, Han 등²⁷⁾의 결과와 일치하였다. Hartmann 등²⁸⁾은 황화카드뮴(cadmium sulphate)에서, Lin 등²⁹⁾은 질산카드뮴(cadmium nitrate)에

서 SCE빈도의 유의한 증가를 보였다.

또한, 카드뮴에 대한 셀레늄과 아연의 영향을 알아보기 위해 0.5 μM 에서 16.0 μM 까지의 카드뮴 각 농도에 투여한 셀레늄 1.2 μM 과 아연 1.2 μM 의 단독 투여군의 SCE빈도는 셀레늄 6.40 ± 173 , 아연 7.13 ± 1.76 으로 대조군에 비해 유의하게 증가된 SCE빈도를 보였으며, 이는 고 등³⁰⁾에서 셀레늄이, 황 등³¹⁾에서 아연이 SCE빈도를 유의하게 증가시킨다는 결과와 유사하였다.

카드뮴과 셀레늄 동시투여군, 카드뮴과 아연 동시투여군에서의 SCE빈도와 카드뮴 단독투여군에서의 SCE빈도를 비교하였는데, 셀레늄 동시투여군에서는 2.0 μM 과 4.0 μM 에서, 아연 동시투여군에서는 4.0 μM 과 8.0 μM 에서 카드뮴 단독투여군보다 유의하게 낮은 SCE빈도를 보여 카드뮴, 셀레늄, 아연 각각의 SCE발현빈도는 대조군에 비해 유의하게 높지만 이들이 카드뮴과 동시투여 되었을 때 서로의 독성이 상쇄되어 SCE발현빈도를 낮추는 것으로 보아 카드뮴에 대한 셀레늄과 아연의 길항작용이 SCE발현빈도에도 영향을 미친 것이 아닌가 생각된다.

고 등³⁰⁾은 셀레늄과 카드뮴의 몰농도비가 1:2, 1:4의 조건에서 각각의 SCE빈도의 억제작용을 보고하였고, 본 실험에서는 셀레늄이 카드뮴에 작용하여 SCE빈도발현의 억제를 보이는 카드뮴의 농도가 2.0 μM 과 4.0 μM 으로서 고 등의 실험결과와 비슷한 카드뮴, 셀레늄 농도의 비를 보였다.

아연의 카드뮴에 대한 길항작용을 SCE빈도 측면에서 살펴본 연구는 많지 않지만, 황 등³²⁾에 의하면 그 자체로서 SCE발현빈도의 증가를 유발하며, 아연의 섭취로 인한 카드뮴에 의해 유발되는 내자의 성장지연의 방지³³⁾등 아연의 카드뮴에 대한 보호작용은 잘 보고되어 있고, 카드뮴과 아연의 동시투여군에서도 카드뮴과 셀레늄 동시투여군과 비슷하게 4.0 μM 과 8.0 μM 에서 카드뮴 단독투여군보다 유의하게 낮은 SCE빈도를 보여 아연 역시 카드뮴에 의한 SCE발현빈도의 증가를 억제하는 작용을 나타내는 것으로 보여진다.

한편, 세포분열지수는 카드뮴, 셀레늄, 아연의 단독투여군에서 현저한 감소를 보이나, 동시투여군에서 단독투여군과 비슷한 수준의 감소를 나타내 카드뮴투여에 의한 세포분열지수의 감소가 셀레늄이나 아연의 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

이상의 실험결과에서 카드뮴에 의한 SCE발현빈도가 dose dependent한 결과를 보이고 셀레늄과 아연

의 동시투여로 인하여 카드뮴에 의해 유발되는 SCE발현이 억제되는 결과를 보이지만 이러한 작용이 모든 카드뮴화합물에서 보여진다고는 보기 어려우며 어떠한 농도조건에서 어떠한 기전에 의해 이들 중금속이 카드뮴에 대한 보호작용을 나타내는지에 대한 연구는 추후 진행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

카드뮴의 세포독성 및 셀레늄과 아연이 카드뮴의 세포독성에 미치는 영향을 알아보기로, 성인 남자의 전완혈액에 카드뮴을 0.5 μM 에서 16.0 μM 까지 6개 농도로 첨가하고 각 카드뮴 농도별로 1.2 μM 의 셀레늄 또는 아연을 첨가하여 48시간 배양 후 형광염색(fluorescence-plus-Giemsa staining)하여 2차분열 증기의 염색체에서 SCE빈도와 세포분열지수를 관찰하여 카드뮴 단독투여군과 대조군, 카드뮴 단독투여군과 셀레늄 또는 아연 동시 투여군간을 비교한 결과는 다음과 같다.

카드뮴은 대조군에 비하여 카드뮴 투여군의 SCE 빈도를 현저히 증가시키며 SCE빈도는 카드뮴 투여 농도에 비례하여 증가하였고, 세포분열지수는 농도에 반비례하여 감소하였다.

카드뮴과 셀레늄, 카드뮴과 아연 동시투여군에서의 SCE빈도는 카드뮴 단독투여군과 비슷하게 대조군에 비해 유의하게 높았으며 카드뮴 농도의 증가에 비례하여 증가되었고, 세포분열지수는 카드뮴 농도에 비례하여 유의하게 낮았다.

카드뮴에 1.2 μM 의 셀레늄을 동시투여한 경우 2.0 μM 과 4.0 μM 의 농도에서, 1.2 μM 의 아연을 동시투여한 경우 4.0 μM 과 8.0 μM 의 농도에서 카드뮴 단독투여군보다 유의하게 낮았으나, 세포분열지수는 전반적으로 셀레늄이나 아연 첨가의 영향을 받지 않았다.

셀레늄과 아연을 1.2 μM 의 농도로 단독투여한 군에서의 SCE빈도는 각각 6.40 ± 1.73 , 7.13 ± 1.76 으로 대조군에 비해 현저히 높았으며, 세포분열지수도 유의하게 낮았다.

참고문헌

- 1) 이광목 : 환경과 중금속. 카톨릭대학 의학부 논문집, 41(2), 475-478, 1988.
- 2) Degraeve N : Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effect of cadmium. *Mutat Res*, 86, 115-135, 1981.
- 3) Elinder CG, Kjellstrom T, Hogstedt C, Andersson K, Spang G : Cancer mortality of cadmium workers. *Br J Ind Med*, 22, 117-124, 1992.
- 4) Levin AA, Miller RK : Fetal toxicity of cadmium : Decreased placental blood flow in the Wister rat. *Teratology*, 19, 36-37, 1979.
- 5) Ernest C Foulkers : *Handbook of experimental pharmacology*. Springer-verlag, Berlin Heidelberg, p101, 1986. Biomedical Amsterdam, 1978
- 6) Ganther HE, Goudie CM, Sunde ML, Kopecky MJ, Wagner P, Oh SH, Heokstra WG : Selenium : relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tynam. *Science*, 175, 1125-1134, 1972.
- 7) Morimoto K, Lijima S, Koizumi A : Selenite prevents the induction of sister chromatid exchanges by methylmercury and mercuric chloride in human whole blood cultures. *Mutat Res*, 102, 186-192, 1972.
- 8) Shopsis C : Antagonism of cadmium cytotoxicity by differentiation inducers. *Cell Bio Toxicol*, 10(3), 191-205, 1994.
- 9) Parkizer J : The destructive effect of cadmium ion on testicular tissue and its prevention by zinc. *J Endocrinol*, 15, 56, 1957.
- 10) Gunn SA, Gould TC : Specificity of response in relation to cadmium, zinc and selenium. *Antarc*, 495, 1966.
- 11) Webb M : Protection by zinc against cadmium toxicity. *Pharmacol*, 21, 2767-2771, 1972.
- 12) Robert Ahokas, PVD lits, Jr, Ethelyn B Lahaye : Cadmium- induced fetal growth retardation : Protective effect of excess dietary zinc. *Am J Obstet Gynecol*, 136(2), 216-221, 1980.
- 13) Ames BN, Durston WE, Yamasaki E, Lee FD : Carcinogens are mutagens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 70, 2281-2285, 1973.
- 14) 조규상역 : Chemical carcinogens : A review of the science and its associated principles. 특수건강 진단기술협회, 1996.
- 15) Taylor JH, Woods PS, Hughes WL : The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labelled thymidine. *Proc Nat Acad Sci USA*, 43, 122-138, 1957.
- 16) Latt SA : Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. *Proc Nat Acad Sci USA*, 70, 3395-3399, 1973
- 17) Perry P, HJ Evans : Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature*, 258, 121-124, 1975.
- 18) Perry P, Wolff S : New Giemsa method for differential staining of sister chromatids. *Nature*,

- 251, 156-158, 1974.
- 19) Kato H : Spontaneous sister chromatid exchanges detected by Brdu-Labeling method. *Nature*, 251, 70-72, 1974.
- 20) Park EH, Kim YJ, Byun DH, Lee JY, Lee JS : Base line frequency of sister chromatid exchanges in 142 persons of the general Korean population. *Mutat Res*, 268(2), 239- 246, 1992.
- 21) 최영주, 김영환, 차길환 : 일부 도급작업자의 임파구 자매염색분체교환 출현에 관한 연구. *고의대논문집*, 24(1), 249-257, 1987.
- 22) 맹승희, 정해원 : 카드뮴독성을 평가하기위한 방법으로서의 염색체이상 및 자매염색체교환. *Kor J Env Hlth Soc*, 17(1), 110-119, 1991.
- 23) Deaven LL, EW Campbell : Factors affecting the induction of chromosomal aberrations by cadmium in Chinese hamster cells. *Cytogenet Cell Genet*, 26, 251-260, 1980.
- 24) 정채득, 이정상, 고대하, 기노석, 황인담 : 일부 중금속이 인혈배양 임파구의 염색체이상 및 자매염색분체교환에 미치는 영향. *예방의학회지*, 22(1), 116-124, 1989.
- 25) Howard W, Leonard B, Moody W, Kochhar TS : Induction of chromosome changes by metal compounds in cultured CHO cells. *Toxicol Lett*, 56(1-2), 179-186, 1991.
- 26) 고대하, 기노석 : Selenium이 mercury, cadmium 및 chromium에 의한 자매염색분체교환의 빈도에 미치는 영향. *예방의학회지*, 23(1), 1-10, 1990.
- 27) Han C, Wu G, Yin Y, Shen M : Inhibition by germanium oxide of the mutagenicity of cadmium chloride in various genotoxicity assays. *Food Chem Toxicol*, 30(6), 521-524, 1992.
- 28) Hartmann A, Speit G : Comparative investigations of the genotoxic effects of metals in the single cells gel assay and the sister chromatid exchange test. *Environ Mol Mutagen*, 23(4), 299-305, 1994.
- 29) Lin RH, Lee CH, Chen WK, Lin Shiau SY : Studies on cytotoxic and genotoxic effects of cadmium nitrate and lead nitrate in Chinese hamster ovary cells. *Environ Mol Mutagen*, 23(2), 143-149, 1994.
- 30) 황인담, 박영주, 김유백, 고대하, 이정상 : 중금속이 배양임파구의 자매염색분체교환에 미치는 영향. *전북의대논문집*, 10(1), 1-9, 1986.