

# 노인의 흡연상태와 나이가 SCE 빈도수로 본 임파구 DNA 손상에 미치는 영향

이 정 희\* · 강 명 희\*\*§

천안외국어대학교 외식산업과, \* 한남대학교 이과대학 식품영양학과\*\*

## Effects of Smoking and Age on SCE Frequency Reflecting DNA Damage of Human Lymphocytes in Elderly Koreans

Lee, Jung-Hee\* · Kang, Myung-Hee\*\*§

Department of Food Service Industry, \* Chonan College of Foreign Studies, Cheonan 330-705, Korea

Department of Food and Nutrition, \*\* Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

### ABSTRACT

Sister chromatid exchange (SCE) has recently become a common cytogenetic assay system for detecting exposure to chemical mutagens and carcinogens. One application of SCE is the monitoring of populations believed to have been exposed to such agents. A cross-sectional study of SCE frequency in peripheral blood lymphocytes from 45 Koreans aged 61 to 84 years was conducted. The effect of cigarette smoking and age on SCE was assessed by different degrees of smoking status such as smokers (n = 14), ex-smokers (n = 16) and non-smokers (n = 15). Mean spontaneous SCE per cell for the smokers (11.5 ± 1.1) was significantly higher (p < 0.05) than that for the non-smokers (8.8 ± 0.3). However, mean SCE frequencies per cell for the ex-smokers (10.3 ± 0.6) were not significantly different from those of the smokers or the non-smokers. The smokers showed an increased number of high SCE frequency cells (HFCs) when compared to the ex-smokers and non-smokers (p < 0.05). The mean SCE frequencies of the non-smokers showed a statistically significant increase (p < 0.05) with the subject's age. These results show that age and smoking habits contribute a great deal in setting a higher degree of basal DNA damage in elderly Koreans, and smoking appeared to be a more significant damaging factor than age. (*Korean J Nutrition* 36(8) : 851~858, 2003)

**KEY WORDS** : SCE frequency, DNA damage, elderly, smokers, lymphocyte, high SCE Frequency cell (HFC).

### 서 론

담배에는 많은 발암물질이 함유되어 있을 뿐 아니라 담배를 피우게 되면 체내에서 활성산소종 (ROS)의 생산이 증가한다.<sup>1,2)</sup> 이 활성산소종은 세포 DNA와 반응하여 세포에 산화적 손상을 일으키어 single-strand breaks (SSB)를 일으키며,<sup>3)</sup> 이런 형태의 DNA 손상이 생기면 이는 곧 암으로 쉽게 발전된다. 분자수준에서 생체 유전 물질에 심각한 손상을 입히는 중요한 인자인 흡연의 유전독성과 발암성에 대해서는 이미 많은 연구가 보고되었으며,<sup>4-6)</sup> 흡연이 여러 형태의 암, 즉 구강암, 폐암, 인두암, 식도암, 신장암, 방광암, 췌장암, 자궁경부암의 위험을 높인다고 보고되었다.<sup>7)</sup> 몇몇

연구는 흡연이라는 요인이 유전적인 요인이나 영양학적인 요인만큼 암의 위험을 증가시키는 중요한 요인이 되는 것을 명백하게 보여주고 있다.<sup>4,5,7)</sup> 또 흡연 뿐 아니라, 나이가 들어가면서 산화적 DNA 손상이 누적되면 mRNA expression과 세포의 기능에 직접적인 영향을 주는 단백질의 생산이 감소하게 되며,<sup>8)</sup> 이 때는 적은 손상이라도 회복 기전 (base excision-repair pathway)에 의해 이 손상이 제거되지 않으면 깊은 생물학적인 손상으로 이어진다.

생물체의 세포 내 DNA 손상 정도를 관찰하는 기술적인 방법에는 alkaline elution,<sup>9)</sup> nucleoid sedimentation,<sup>10)</sup> sister chromatid exchange (SCE),<sup>11)</sup> chromosome aberration,<sup>12)</sup> DNA adduct measurements,<sup>13)</sup> 그리고 micronuclei (MN)<sup>14)</sup> 등의 방법이 있다. 이 중에서 앞의 두 가지 방법은 cell population에 관한 정보를 마련해 주지만 DNA 손상을 민감하게 나타내주지 못할 뿐 아니라 subpopulations의 repair capacity를 나타내 주지 못하는 방법이다. 나머지 세포유전

접수일 : 2003년 8월 13일

채택일 : 2003년 9월 30일

§ To whom correspondence should be addressed.

학적 방법 역시 증식하고 있는 세포와 관련되어 있다는 제한점이 있다. 이 중 인체 임파구의 SCE 빈도수를 관찰하는 방법은 SCE가 나타나는 분자적 기전이 아직 밝혀지지 않았고 있지만<sup>15)</sup> 인체의 유전적인 손상을 평가하는데 널리 활용되고 있는 방법으로써,<sup>16)</sup> in vivo pre-existing DNA 손상을 나타내주는 방법이다.<sup>17)</sup>

인체 임파구의 SCE 빈도수는 생활방식이나 몇몇 생물학적 요인들에 의해 영향을 받는다.<sup>18,19)</sup> 대부분의 연구에서 흡연을 할 경우 평균 SCE 빈도수는 증가하는 것으로 보고되고 있으며,<sup>20-22)</sup> 이로 인해 암의 위험이 증가하였다.<sup>4-6)</sup> 뿐만 아니라 흡연은 MN 형성을 증가시키고,<sup>14)</sup> 폐암환자의 DNA repair capacity (DRC)는 대조군에 비해 감소하였다고 한다.<sup>23)</sup> 그러나 임파구 SCE 빈도수는 흡연과 관계가 없었다는 연구도 보고되었다.<sup>24)</sup> 인체 임파구 SCE 빈도수는 나이와 성별에 따라서도 변화하며 남성보다 여성, 그리고 젊은 사람보다 나이 든 사람의 SCE 빈도수가 유의적으로 높음이 보고되었다.<sup>18,19)</sup> 반면, 나이 혹은 성별과 SCE 빈도수는 무관하다는 연구보고도 있다.<sup>25)</sup> 나이와 흡연의 DNA 손상에 대한 상호 효과를 비교하여 보고한 논문은 많지 않으나, Sarto 등<sup>11)</sup>은 SCE 빈도수에 영향을 주는 요인 중 흡연과 나이가 가장 큰 영향을 준다고 하였으며 임파구의 유전적인 손상에 흡연보다 나이가 더 큰 영향을 주었다고 하였다. Soper 등<sup>26)</sup>은 흡연과 나이가 모두 SCE 빈도수를 증가시키지만 나이보다 흡연이 더 크게 증가시킨다고 하였다.

한편 국내에서는 SCE의 human monitoring 연구로 Shim 등<sup>27)</sup>과 Lee 등<sup>28)</sup>이공단지역에 사는 주부를 대상으로 흡연과 SCE 빈도수와의 관계를 보고한 연구, Park 등<sup>29)</sup>이 한국인 142명의 SCE 빈도수를 보고한 연구, 그리고 남자대학생의 흡연습관에 따른 인체 임파구 SCE 빈도수의 변화에 대한 연구<sup>29)</sup>가 있으나 노인 등 그 외에 일반 인구 집단을 대상으로 흡연습관이 임파구 SCE에 미치는 영향에 관해서는 보고된 바 없다.

최근 들어 노인의 인구가 증가함으로 인해 노인의 복지 문제와 건강문제 등이 사회 문제로 대두되고 있다. 노인들의 경우 많은 사람들이 금연, 금주를 한다든지 여러 가지 건강식품을 섭취한다든지 하여 건강에 관심을 가지고 있으나 남자 노인의 경우 아직도 흡연 인구가 상당수 존재하고 있으며 흡연으로 인한 DNA 손상정도를 살펴본 연구는 보고된 바 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 일부 지역 노인의 흡연습관과 나이에 따라 인체 임파구 SCE 빈도수가 어떤 영향을 받는지를 알아보려고 하며 그 결과에 따라 과연 노인대상으로 SCE 빈도수를 측정하는 방법이 노인을 둘러싼 유해물질, 특히 흡연의 피해에 대한 monitoring 방법으

로 유용한지를 판단해 보고자한다. 이러한 연구는 앞으로 더욱 많은 환경요인들의 인체에 미치는 영향에 관한 보다 광범위한 연구를 위해 필요하고도 중요한 첫 작업이라고 생각된다.

## 연구방법

### 1. 조사 대상자 선정

노인의 흡연에 따른 SCE 빈도수의 변화를 보기 위하여 대전 J교회 소속 경로 대학에 등록된 60세 이상의 남, 여 노인 176명을 대상으로 하여 설문 조사를 실시하였다. 질문지의 내용은 일반적인 사항, 건강 및 환경 요인으로 구성하였다. 일반적인 사항에는 나이, 성별, 가족 수, 용돈, 배우자와의 관계 등을 넣었고 건강 및 환경 요인으로는 흡연에 관한 사항, 질병 및 유전적인 결함의 유무, 장기적인 의약품의 복용 여부, 컴퓨터나 X-ray 또는 유해 물질의 노출 여부로 구성되었다. 질문지 조사는 미리 훈련받은 조사원 30명이 노인 1명씩과 개별 면담하면서 조사하였다. 수집된 질문지를 여러 문항에 걸쳐 검토하여 유해 환경이나 석면, 농약 등 유해 화학 물질에 과다하게 노출되었던 사람, 큰 질병이나 감염이 있는 사람, X-ray 노출 빈도수가 많은 사람, 큰 수술을 했던 사람들은 본 연구의 대상자 선정에서 제외시켰다. 이때 검토한 항목은 Carrano와 Natarajan의 논문<sup>13)</sup>을 참고로 하였다. 대답이 불성실하거나, 채혈하는 것을 동의하지 않거나, 채혈 후 혈액이 분석하기에 충분하지 않은 자를 제외한 후, 조사된 흡연습관에 따라 총 45명의 대상자를 흡연군 14명, 금연군 16명 및 비흡연군 15명으로 나누었으며, 흡연군은 3년 이상 담배를 피워온 사람, 금연군의 경우는 담배를 끊은 지 2년이 경과한 사람을 대상으로 하였으며, 비흡연군의 경우는 담배를 피워본 경험이 없는 사람으로 선정하였다. 한편 SCE 빈도수는 성별에 따라 다르다고 알려져 있으며<sup>26)</sup> 본 연구에서는 대상자를 흡연과 비흡연군으로 나누어 SCE 빈도수의 차이를 보고자 하였으므로 흡연자가 많지 않은 여자 노인을 제외시키고 남자 노인들만을 본 연구의 대상자로 선정하였다.

### 2. SCE(Sister Chromatid Exchange) test

#### 1) 채혈 및 혈액 세포 배양

위와 같은 검토 항목에 따라 선정된 최종 조사 대상자 45명의 대상자로부터 채혈한 것을 SCE 분석에 사용하였다. 공복상태인 채혈 대상자들로부터 약 3 ml의 혈액을 50 IU/ml Sodium heparin (Sigma)이 들어 있는 멸균된 시험관에 제공받아 SCE 분석시험을 수행하였다. 채혈한 혈액은 채혈하는 동안 ice-box에 보관하였고 채혈이 끝난 후에 즉

시 SCE 시험에 사용하였다. 혈액 세포 중 임파구 배양을 위한 배양액으로 Eagle's minimum essential medium (EMEM, Gibco co)을 사용하였으며 100 unit/ml penicillin/Streptomycin (Sigma)과 15% heat inactivated fetal calf serum (Gibco co)을 첨가하여 PH 7.0으로 적정하였다. 배양액 10 ml에 전혈 0.8 ml를 첨가하고 Phytohemagglutinin (PHA, Sigma) 100  $\mu$ l와 5 mM 5-bromodeoxyuridine (BudR) (Sigma) 50  $\mu$ l, heparin 100  $\mu$ l를 넣어서 잘 혼합하였다. BudR을 투여한 후부터는 photolysis를 방지하기 위하여 모든 조작용 빛이 차단된 곳에서 실시하였고 배양 용기도 aluminium foil로 이중으로 싸서 37°C 5% CO2 incubator에 넣어 배양하였다.

**2) 표본 제작 및 SCE 관찰**

배양이 시작되고 70시간이 되면 배양을 중단시키기 위해 10 mg/ml의 colchicine (BDH)을 50  $\mu$ l씩 분주하고 다시 2시간 더 배양시켰다. 72시간의 배양이 끝나면 배양액을 원심 분리관에 옮겨 1000 rpm에서 5분간 원심 분리시키고 상등액은 제거하였다. 그 후 water bath에서 37°C로 예열된 0.075 M KCl을 8 ml씩 넣어 침전된 세포들을 조심스럽게 부유시키고 5분간 water bath에서 정착시킨 후 다시 1000 rpm으로 5분간 원심분리시켜 상등액을 제거하고 적당량 (8 ml 정도)의 고정액 (methanol : glacial acetic acid = 3 : 1)으로 고정한 후 1000 rpm에서 5분간 원심 분리시켰다. 동일한 방법으로 고정액을 가하여 원심 분리하는 과정을 3회 정도 반복하여 적혈구를 완전히 제거한 후에 ethanol로 깨끗이 닦은 Slide위에 떨어 뜨려 자연 건조시켰다. 표본 염색은 1974년 Perry & Wolff에 의해 개발된 Fluorescence plus Giemsa technique<sup>30)</sup>을 사용하였다. 53.4 g의 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O를 약 800 ml의 증류수에 녹인 다음 pH 10.4로 정확히 맞추어 1 L의 Scöenson's buffer를 사용하여 만든 5% Gurr's Giemsa액에 slide를 담가 15분간 염색하였다. 염색된 slide를 흐르는 물에 살짝 씻어낸 후 증류수에 담갔다가 꺼내어 여과지로 물기를 닦아내고 자연 건조시켰다. 표본은 광학 현미경으로 관찰하면서 2차 분열된 중기 염색체를 가진 세포를 찾고 46개의 염색체 수를 확인한 다음 이 중 SCE 빈도수를 관찰하였다. 각 표본 당 세포는 40 개씩을 관찰한 후 세포 당 평균 빈도수를 계산하였다.

**3. 자료의 통계처리**

모든 자료의 처리는 SPSS-PC+통계 package를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치  $\pm$  표준 오차 (S.E.)를 구하였으며 연속형 자료의 경우 군별 유의성 검증을 위해서는 One-way 분산분석 (ANOVA)한 후 F값

을 구하였고 Tukey's test를 이용하여 각 군간의 유의성의 차이를 검증하였다. 두 군간의 평균치의 유의성은 Student's t-test를 실시하여 알아보았으며 범주형 자료인 경우  $\chi^2$  값을 구하여 각 군별 유의성 검증을 실시하였다. 변수들 사이의 상관관계는 Pearson's moment product correlation coefficients R 계수로 검증하였다.

**결과 및 고찰**

설문지 분석에 의해 선정된 45명의 혈액제공자의 임파구를 배양하여 SCE 빈도수를 관찰한 결과 전체적인 SCE 빈도수의 분포는 Fig. 1과 같았으며 45명의 평균 SCE 빈도수는 10.18개였다.

**1. 흡연에 따른 SCE 빈도수의 변화**

흡연은 사망과 많은 질병들을 유발시키는 가장 커다란 원인 중의 하나일 뿐 아니라 암 발생의 환경성 위험인자로서 폐암의 주요 원인이다. 그 동안 흡연으로 인한 인체의 유해 정도는 많은 부분에서 연구되어 왔다. Tompson 등<sup>31)</sup>은 담배의 주성분인 nicotine을 쥐에게 장기간 처리한 결과 장기의 무게 증가와 체중감소가 일어났다고 하였으며 또 Escherichia coli를 이용한 실험에서도 DNA의 손상을 일으켰다고 한다.<sup>32)</sup> 흡연이 세포 유전 독성에 미치는 영향을 알아보는 방법에는 여러 가지가 있으나 다른 방법들에 비해 SCE 방법의 경우 흡연으로 인한 영향을 비교적 민감하게 알아낼 수 있는 방법으로 알려져 있다.<sup>33)</sup> 본 조사에서는 조사대상자 45명을 Table 1에서 보는 바와 같이 흡연군 14명과 금연군 15명으로 나누었다. 흡연군의 평균 나이는 71.1세, 금연군은 72.9세 그리고 비흡연군은 69.9세로 세 군간의 유의적인 차이는 없었다. 흡연군의 흡연량은 하루 16.4개피,

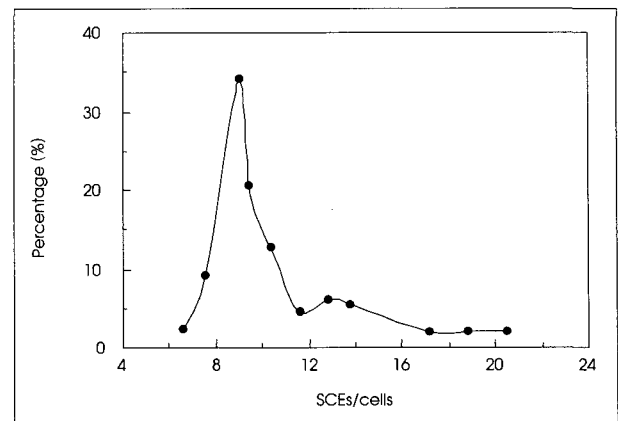


Fig. 1. Percentage of the mean number of SCEs in lymphocytes of 45 elderly people.

**Table 1.** Details of smoking habits and SCE frequencies in elderly people with different degrees of smoking status

Variables	Smoker (n = 14)	Ex-smoker (n = 16)	Non-smoker (n = 15)	All subject (n = 45)
Age				
Mean ± SE	71.1 ± 1.5	72.9 ± 1.4	69.9 ± 1.0	71.4 ± 0.8
(Range)	(61~79)	(62~84)	(64~78)	(61~84)
Mean number of cigaretts/day				
Mean ± SE	16.4 ± 1.3	18.8 ± 2.0	-	17.7 ± 1.2
(Range)	(10~20)	(10~40)	-	(10~40)
Duration of smoking (year)				
Mean ± SE	45.4 ± 2.7	33.1 ± 3.2 <sup>1)</sup>	-	38.9 ± 2.4
(Range)	(20~60)	(5~50)	-	(5~60)
Smoking history (pack years) <sup>2)</sup>				
Mean ± SE	37.4 ± 4.1	32.1 ± 4.6	-	34.2 ± 3.1
(Range)	(20~60)	(2.5~80)	-	(2.5~80)
SCE frequencies/cell <sup>3)</sup>				
Mean ± SE	11.5 ± 1.1 <sup>4a)</sup>	10.3 ± 0.6 <sup>4b)</sup>	8.8 ± 0.3 <sup>4c)</sup>	10.2 ± 0.4
(Range)	(7.7~20.4)	(7.5~17.1)	(6.6~10.7)	(6.6~20.4)

1) Mean years of smoking cessation in ex-smokers = 9.5 years, the range in 1~22 years

2) Pack years = on the basis of one pack of cigarettes per day

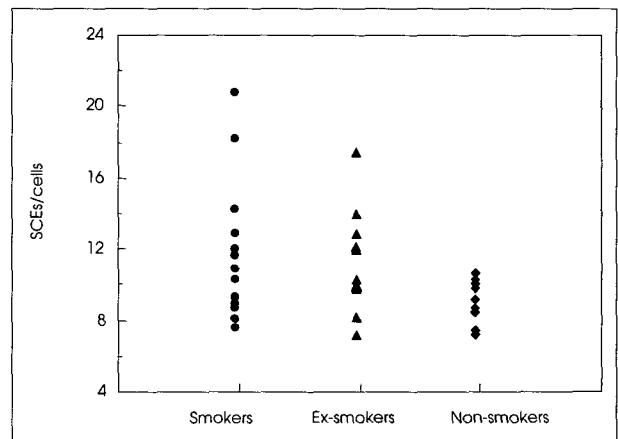
3) F-ratio = 3.62, p = 0.035

4) Values within a row not shared by the same letter are significantly different at  $\alpha = 0.05$  level by Tukey's tests

그리고 흡연력은 45.4년이었으며 금연군의 경우는 하루 18.8 개피, 흡연력은 33.1년이었고 담배를 끊은 지는 평균 9.5년이 경과하였다.

흡연력을 단순히 년도로만 나타내는 것보다는 하루에 1갑 피우는 것을 기준으로 하여 하루에 피우는 담배의 양과 연결시켜 표현하는 방법이 널리 통용되고 있으므로<sup>33)</sup> 본 논문에서도 pack year 단위로 흡연력을 보았더니 흡연군 37.4년, 금연군 32.1년으로 유의적인 차이는 볼 수 없었다.

흡연군과 비흡연군의 혈액 임파구 SCE 빈도수를 관찰한 결과 흡연군의 경우  $11.5 \pm 1.1$ 인데 비해 금연군은  $10.3 \pm 0.6$ , 그리고 비흡연군은  $8.8 \pm 0.3$ 으로 비흡연군에 비해 흡연군의 SCE 빈도수가 유의적으로 높은 것을 볼 수 있었다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 2). 이러한 결과는 우리나라 남자대학생을 대상으로 조사한 결과<sup>29)</sup> 흡연대학생의 SCE 빈도수가 비 흡연대학생에 비해 높았다는 보고와 일치하였다. Livingston과 Fineman<sup>33)</sup>은 흡연력이 26년인 평균 40세의 흡연자와 비흡연자를 대상으로 SCE를 조사한 결과 비흡연자의 SCE는 8.5인데 비해 흡연자는 10.8로 흡연자의 SCE 빈도수가 유의적으로 높았다고 보고하였으며, 하루 평균 18개피를 피우는 10명의 흡연자와 10명의 비흡연자를 비교한 결과 흡연군의 SCE 빈도수가 유의적으로 높게 나타났다는 Hopkin과 Evans<sup>34)</sup>의 보고, 또 흡연자의 SCE 빈도수가 비흡연자 보다 세포당 0.5개가 증가하였다는 Soper 등<sup>26)</sup>의 연구 결과 등 여러 보고와도 일치하였다. 그 외에도 Dewdney 등<sup>35)</sup>을 비롯한 여러 연구자들이<sup>11,36)</sup> 흡연이 SCE 빈도수를



**Fig. 2.** The frequencies of SCE in lymphocytes of individuals with different degrees of smoking status.

증가시킨다고 보고하였다. 본 연구의 SCE 빈도수는 다른 연구 보고에서와 유사하게 흡연군이 비흡연군에 비해 유의적으로 증가하였고 Soper 등<sup>26)</sup>과 Livingston과 Fineman<sup>33)</sup>의 경우와 비슷한 수치를 보였다.

흡연군 및 금연군을 흡연량이 감안된 흡연력 (pack years)의 정도에 따라 하루 1갑 기준 2~39년의 흡연력을 가지는 군과 40~80년의 흡연력을 가지는 군으로 나누어 SCE 빈도수간의 차이를 본 결과는 Table 2와 같다. 흡연력이 2~39년인 경우의 10.2에 비해 40~80년인 경우 11.7을 보여 SCE 빈도수가 다소 증가하였으나 유의적인 차이는 볼 수 없었다. 반면, 비흡연군에 비해서는 40~80년의 흡연력을 가진 군의 SCE가 높았다 ( $p < 0.05$ ). 그러나 이 결과는 금

연군과 흡연군을 합하여 분석한 것이므로, 흡연군과 금연군을 분리하여 흡연력과 SCE 빈도수의 상관관계를 살펴 본 결과 (Table 3), 흡연군에서 흡연력과 SCE 빈도수 사이에 유의적인 정의 상관관계가 나타난 반면 ( $r = 0.489, p < 0.05$ ), 금연군에서는 흡연력과 SCE 빈도수 사이에 유의적인 상관관계를 보이지 않았다. 흡연과 SCE 빈도수와 관련된 선행 연구들을 보면, Livingston과 Fineman<sup>33)</sup>은 흡연량이 감소된 흡연력에 따라 각 군별 SCE 빈도수를 관찰한 결과 흡연력이 증가하면서 SCE 빈도수도 따라 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다고 보고하였다. 반면에 Hopkin과 Evans<sup>34)</sup>는 tobacco smoke에 대한 *in vitro* 연구에서 CSC (cigarette smoke condensate)의 양을 0, 0.1, 0.5, 1.0 mg으로 달리 하여 인체의 임파구를 배양한 결과 CSC의 양이 증가하면서 SCE 빈도수가 증가하였다고 보고하였다.

흡연 시 SCE 빈도수가 증가하는 것을 더 자세히 평가해

**Table 2.** SCE frequencies of the 45 elderly people by smoking history

Smoking history <sup>1)</sup> (Pack years)	Number of samples	SCE frequencies/cell <sup>2)</sup> (Mean ± SE)
0 year	15	8.8 ± 0.3 <sup>ab</sup>
2~39 years	16	10.2 ± 0.7 <sup>ab</sup>
40~80 years	14	11.7 ± 1.0 <sup>b</sup>

1) Pack years = on the basis of one pack of cigarettes per day  
 2) F-ratio = 4.17,  $p = 0.022$   
 3) Values within a column not shared by the same letter are significantly different at  $\alpha = 0.05$  level by Tukey's test

**Table 3.** Correlation coefficients between SCE frequency and age or smoking of the elderly people

Variables	Smokers (n = 14)	Ex-Smokers (n = 16)	Non-Smokers (n = 15)	All subject (n = 45)
Smoking history	0.489*	-0.096	-	0.241
Age	-0.011	0.226	0.138	0.127

\*:  $p < 0.05$

**Table 4.** High frequency cells (HFCs, cells with  $\geq 15$  SCEs) in pooled cell populations for 3 groups

Group	Number of HFCs	Number of cells with $< 15$ SCEs	Total number of cells
Smoker (n = 14)	152 <sup>1)</sup> (27.1%) <sup>2)</sup>	408 (72.9%)	560 (100%)
Ex-Smoker (n = 16)	96 (15.6%)	520 (84.4%)	616 (100%)
Non-Smoker (n = 15)	52 (8.7%)	548 (91.3%)	600 (100%)

1) Chi-square = 71.6,  $p < 0.001$ , compared with the ex-smokers or non-smokers,  $\chi^2$ -test  
 2) Chi-square = 12.2,  $p < 0.01$ , compared with the ex-smokers or non-smokers,  $\chi^2$ -test

**Table 5.** SCE frequencies by age distribution of the elderly people

Age	SCEs/cell							
	n	Smokers	n	Ex-Smokers	n	Non-Smokers	n	All subject
61~69	6	11.7 ± 1.7 <sup>NS1)</sup>	3	8.9 ± 0.7 <sup>NS</sup>	7	8.9 ± 0.3 <sup>ab2)</sup>	16	10.0 ± 0.7 <sup>NS</sup>
70~73	3	10.0 ± 0.8	6	10.2 ± 0.8	6	8.2 ± 0.4 <sup>c</sup>	15	9.3 ± 0.5
74~84	5	12.2 ± 2.2	7	11.1 ± 1.3	2	10.3 ± 0.5 <sup>d</sup>	14	11.4 ± 1.0

1) NS = Not significant  
 2) F-ratio = 4.61,  $p = 0.033$ , values within a column not shared by the same letter are significantly different at  $\alpha = 0.05$  level by Tukey's test

보기 위하여 대상자 별로 40개 세포의 SCE 빈도수를 모두 합하여 그 중 세포 당 SCE 빈도수가 15개를 넘는 고빈도 세포분석 (HFC, high frequency cell analysis)<sup>37)</sup>을 해 본 결과는 Table 4와 같다. SCE 빈도수를 세포수대로 전부 합하여 보면 비흡연군의 HFC는 52개, 금연군은 96개인데 비해 흡연자군의 경우 152개를 보여 통계적으로 ( $\chi^2$ -test) 유의적인 차이를 나타내었다 ( $p < 0.001$ ). 이러한 결과는 Husgafvel-Pursiainen<sup>38)</sup>이 식당에서 일하는 직원들을 대상으로 흡연여부에 따라 SCE 빈도수를 보았을 때 흡연군에서 비흡연군에 비해 HFC가 유의적으로 많았다는 보고와 일치하는 것이다.

**2. 나이에 따른 SCE 빈도수의 변화**

SCE 빈도수를 증가시키는 요인의 하나로 대상자의 나이를 들 수 있다. 본 연구에서 남자 노인들의 평균 나이는 71.4 세이며 61세부터 84세까지 분포되어 있었다. 연구 대상자가 모두 노인들이어서 나이 차이가 그리 많지는 않았으나 이들을 3분위수 (tertile)로 나누어 61~69세, 70~73세, 74~84세의 3군으로 분류하여 각 군당 SCE의 빈도수를 흡연 상태에 따라 나누어 본 결과는 Table 5와 같다. 각 군에서 모두 나이가 증가할수록 SCE 빈도수가 다소 증가하였으나 비흡연군을 제외하고는 통계적인 유의성이 없었으며 이는 흡연상태에 따른 각 군별로 나이와 SCE 빈도수와의 상관관계를 보았을 때 (Table 3), 나이와 SCE 빈도수 간에 유의적인 상관관계를 볼 수 없었던 것과 같은 결과였다. 그러나, 비흡연군의 경우 나이와 SCE 빈도수 사이에 유의적인 상관관계가 없었으나 (Table 3), 나이군별 SCE 빈도수를 조사해 본 경우는 (Table 5) 70~73세군에 비해 74~84세군의 SCE가 유의적으로 높음을 보였다 ( $p < 0.05$ ). DNA 손상 수준 및 이의 회복능력은 노화 및 암과 깊게 관련되어

있다.<sup>39)</sup> 노화와 관련하여 노인 대상자의 세포의 DNA 손상도는 증가하였으며 이는 손상을 인식하고 회복시키는 효율이 감소하기 때문인 것으로 생각된다.<sup>40)</sup> Singh 등<sup>41)</sup>은 나이와 DNA 손상과는 유의적인 관계가 적거나 없다고 보고하였으나, 손상이 많이 일어난 임파구의 비율은 나이에 따라 증가하였다고 하였다.<sup>42)</sup> 임파구 SCE 빈도수는 나이에 따라서 변화하며 젊은 사람보다 나이 든 사람의 SCE 빈도수가 유의적으로 높음이 보고되었다.<sup>18,19)</sup> Sarto 등<sup>11)</sup>은 1세부터 75세의 남, 여 46명을 대상으로 나이에 따른 SCE 빈도수를 관찰한 결과 1~5세의 SCE 빈도수는 세포당 평균 5.01개였고, 25~35세는 6.80개, 55~75세는 7.70개로 나이가 증가할수록 SCE 빈도수가 유의적으로 증가하는 것을 관찰하였으며, 그 외에도 Soper 등,<sup>26)</sup> Schmit와 Sanger<sup>43)</sup>도 나이의 증가에 따라 SCE 빈도수가 증가함을 보고하였다. 이런 현상은 나이에 따른 세포막의 유동성 (fluidity)의 변화와 지질과산화의 변화, internal 미토콘드리아 peroxide 형성 증가 가능성 등으로 설명될 수 있다.<sup>44)</sup> 그러나 갓 태어난 신생아의 SCE 빈도수가 유아나 성인에 비해 높다는 보고가 있는가 하면,<sup>45)</sup> 나이의 증가와 SCE 빈도수와는 관련이 없으며,<sup>46)</sup> 나이와 SCE 빈도수 간에 역의 상관관계가 있다는 보고도 있다.<sup>20)</sup> Bender 등<sup>25)</sup>은 353명의 인구집단을 대상으로 나이에 따른 SCE 빈도수의 변화를 관찰한 결과 나이에 따라 SCE 빈도수가 증가하였으나 흡연이라는 요인을 고려하였을 때는 나이와 상관관계가 없었다고 한다. 우리나라에서 시행된 연구로는 남자대학생의 나이와 그의 SCE 빈도수와는 유의적인 관련이 없다는 보고<sup>20)</sup>가 한 편 있으나 이 연구는 대학생의 나이 차이가 크지 않았다는 제한점이 있다.

본 연구 결과, 60세 이상 남자 노인의 경우, 나이와 흡연이 DNA 손상에 영향을 주는 요인인 것으로 나타났으며, 두 요인 중에서는 나이보다 흡연요인이 임파구 DNA 손상에 미치는 영향이 더 큰 것으로 나타났다. 나이와 흡연은 DNA repair 기전에도 영향을 주어 산화적 손상에 대한 취약성을 증가시킨다.<sup>47)</sup> 이 요인들의 영향력은 조사한 세포의 형태, 그리고 인구집단 등에 따라 다르게 나타난다. 흡연습관과 관련하여 내재적 항산화제 수준과 그의 보호효과, 그리고 나아가서 외부에서 항산화제를 보충해 준 것의 효과가 연구되었다.<sup>48)</sup> Duthie 등<sup>48)</sup>은 50~59세의 흡연자에게서 비흡연자에 비해 산화된 base의 수준이 높았다고 하여 다른 연구자들의 결과와 일치하는 결과를 보고하였다. 즉, 흡연자에게 20주정도 항산화제를 보충해 주는 영양중재 실험을 실시한 후 endogenous한 산화 손상정도가 감소하였음을 관찰하였다.

결론적으로, 본 연구에서는 남자 노인의 나이가 많을수록,

또 흡연력이 높을수록 산화적 DNA 손상이 높은 것을 볼 수 있었다. 나이와 흡연은 모두 기본적인 DNA 손상도를 나타내는 SCE 빈도수를 증가시키는데 기여하였고 나이보다는 흡연의 영향이 더 큰 것으로 나타났다.

## 요약 및 결론

흡연상태에 따라 일부 지역 남자 노인의 인체 임파구 SCE 빈도수가 어떤 영향을 받는지를 조사해 보고자하여 60세 이상의 노인 176명을 대상으로 설문조사를 실시한 후 설문지를 분석하여 채혈 대상자를 선정하였으며 선정된 61~84세까지의 혈액 제공자 45명의 임파구를 배양하여 SCE 시험을 실시하였다. 조사 대상자의 흡연 및 나이 등의 요인이 SCE 빈도수에 미치는 영향에 대해 SPSS-PC+ 통계 프로그램을 이용하여 분석하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1) 채혈 대상자를 흡연여부에 따라 흡연군 (smoker, n = 14), 담배를 피우다가 현재는 끊은 금연군 (ex-smoker, n = 16), 비흡연군 (non-smoker, n = 15)으로 나눈 후 SCE 빈도수를 비교한 결과 비흡연군  $8.8 \pm 0.3$ , 금연군  $10.3 \pm 0.6$ , 그리고 흡연군은  $11.5 \pm 1.1$ 을 보여 흡연군의 SCE 빈도수가 비흡연군에 비해 유의적으로 높았다 ( $p < 0.05$ ). 흡연력 및 흡연량에 따른 SCE 빈도수의 차이는 볼 수 없었다. 그러나 고빈도 세포분석 (HFC, high frequency cell analysis)을 해 본 결과 흡연군의 HFC가 금연군이나 비흡연군에 비해 높았다.

2) 대상 노인의 여러 인구학적인 요인 중 나이에 대한 SCE 빈도수의 변화를 보면 전 조사 대상자 군 (all subject, n = 45)에서 나이에 대한 SCE 빈도수의 변화를 볼 수 없었으나 비흡연군의 경우 나이가 많은 (74~84세) 노인들의 SCE가 나이가 비교적 적은 (70~73세) 노인들의 SCE 보다 유의적으로 높았다 ( $p < 0.05$ ). 흡연군이나 금연군의 경우는 나이에 대한 SCE 빈도수의 차이를 볼 수 없었다.

위의 결과로부터 흡연하는 노인의 SCE 빈도수가 비흡연 노인에 비해 높으며 비흡연군 노인 중에서도 나이가 많음에 따라 유의적으로 SCE 빈도수가 증가함을 확인할 수 있었다. 그러나 나이보다는 흡연이 임파구 SCE 빈도수에 더 큰 영향을 주는 것으로 나타났다. 이런 결과는 앞으로 노인 대상의 영양중재 시 혹은 영양교육 시에 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

## Literature cited

- 1) Lofroth G. Environmental tobacco smoke: Overview of chemical

- composition and genotoxic components. *Mutat Res* 222: 73-80, 1989
- 2) Nakayama T, Kodama M. Generation of hydrogen peroxide and superoxide anion radicals from cigarette smoking. *Gann* 75: 95-98, 1984
  - 3) Joenje H. Genetic toxicology of oxygen. *Mutat Res* 219: 193-208, 1989
  - 4) McLaughlin JK, Hrubez Z, Blot WJ, Fraumeni JF Jr. Smoking and cancer mortality among US veterans: a 26-year follow-up. *Int J Cancer* 60: 190-193, 1995
  - 5) Veins P, Caporaso N. Tobacco and cancer: epidemiology and laboratory. *Environ Health Prospect* 103: 156-160, 1995
  - 6) Davila DG, Williams DE. The etiology of lung cancer. *Mayo Clin Proc* 68: 170-182, 1993
  - 7) Rojas E, Valverde M, Sordo M, Ostrosky-Wegman P. DNA damage in exfoliated buccal cells of smokers assessed by the single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res* 370: 115-120, 1996
  - 8) Holmes GE, Bernstein C, Bernstein H. Oxidative and other DNA damages as the basis for aging: a review. *Mutat Res* 275: 305-315, 1992
  - 9) Turner DR, Griffith VC, Morley AA. Aging in vivo does not alter the kinetics of DNA strand break repair. *Mech Aging Dev* 19: 325-331, 1982
  - 10) Harris G, Homes A, Sabovijev SA, Cramp WA, Hedges H, Hornsey S, Hornsey JM, Bennett GCI. Sensitivity to X-irradiation of peripheral blood lymphocytes from the aging donors. *Int J Radiat Biol* 50: 685-694, 1986
  - 11) Sarto F, Faccioli MC, Cominato I, Levis AG. Aging and smoking increase the frequency of sister-chromatid exchanges (SCE) in man. *Mutat Res* 144: 183-187, 1985
  - 12) Searle AG, Beechey CV. The influence of mating status and age on the induction of chromosome aberrations and dominant lethals in irradiated female mice. *Mutat Res* 147: 357-362, 1985
  - 13) Hall J, Bresil H, Donato F, et al. Alkylation and oxidative-DNA damage repair activity in blood leukocytes of smokers and non-smokers. *Int J Cancer* 54: 728-733, 1993
  - 14) Laramendy ML, Knuutila S. Increased frequency of micronuclei in B and T8 lymphocytes from smokers. *Mutat Res* 259: 189-195, 1991
  - 15) Tucker JD, Auletta A, Cimino MC, Dearfield KL, Jacobson-Kram D, Tice RR, Carrano AV. Sister chromatid exchange: second report of the Gene-Tox program. *Mutat Res* 297: 101-180, 1993
  - 16) Bukvic N, Gentile M, Susca F, Fanelli M, Serio G, Buonadonna L, Capurso A, Guanti G. Sex chromosome loss, micronuclei, sister chromatid exchange and aging: a study including 16 centenarians. *Mutat Res* 498: 159-167, 2001
  - 17) Nagayama J, Nagayama M, Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Ohki M, Tsuji H. Effect of donor age and contamination level of dioxins and related chemicals on frequency of sister chromatid exchanges in human lymphocytes cultured in vitro. *Chemosphere* 43: 845-849, 2001
  - 18) Bonase S, Bolognesi C, Abbondandolo A, Barale R, Bigatti P, Camurri L, Dalpra L, De Ferrari M, Forni a, Lando C, Padovani P, Pasquini R, Stella M, Puntoni f. Influence of sex on cytogenetic end points: evidence from a large human sample and review of the literature. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 4: 671-679, 1995
  - 19) Barale R, Chelotti L, Vavini T, Del Ry S, Andreassi MG, Ballardini M, Bulleri M, He J, Baldacci S, Di Pede F, Gemignani F, Landi S. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1650 subjects in an Italian population. II. Contribution of sex, age and life style. *Environ Mol Mutagen* 31: 228-242, 1998
  - 20) Hirsch BA, Sentz KK, McGue M. Genetic and environmental influences on baseline SCE. *Environ Mol Mutagen* 20: 2-11, 1992
  - 21) Lazutka JR, Dedonyte V, Krapavickaite D. Sister chromatid exchanges and their distribution in human lymphocytes in relation to age, sex and smoking. *Mutat Res* 306: 173-180, 1994
  - 22) Park EH, Kim JY, byun DH, Lee JY, Lee JS. baseline frequency of sister chromatid exchanges in 142 persons of the general Korean population. *Mutat Res* 268: 239-246, 1992
  - 23) Wei Q, Cheng L, Hong WK, Spitz MR. Reduced DNA repair capacity in lung cancer patients. *Cancer Res* 56: 4103-4107, 1996
  - 24) Betti C, Davini T, Giannessi L, Loprieno N, Barale R. Microgel electrophoresis assay (Comet test) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects. *Mutat Res* 307: 323-333, 1994
  - 25) Bender MA, Preston J, Leonard RC, Pyatt BE, Gooch PC. Chromosomal aberration and sister-chromatid exchanges frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample. II. Extension of age range. *Mutat Res* 212: 149-154, 1989
  - 26) Soper KA, Stolley PD, Galloway SM, Smith JG, Nichols WW, Wolman SR. Sister chromatid exchange (SCE) report on control subjects in a study of occupationally exposed workers. *Mutat Res* 129: 77-88, 1984
  - 27) Shim JS, Lee HK, Kim YH, Roh JK, Anderson D. Sister-chromatid exchanges in 52 Korean women living in the vicinity of an industrial complex. *Mutat Res* 224: 511-515, 1989
  - 28) Lee IP, Kim YH, Kang MH, Roberts C, Shim JS, Roh JK. Chemopreventive effect of green tea (*Camellia sinensis*) against cigarette smoke-induced mutations (SCE) in humans. *J Cell Biochem Suppl* 27: 68-75, 1997
  - 29) Cho SS, Kang MH. The variations of the SCE frequency of human lymphocytes by smoking habits and dietary factors in college students. *Korean J Nutrition* 26: 313-324, 1993
  - 30) Perry P, Wolff S. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature (London)* 258: 121-125, 1974
  - 31) Thompson JH, Irwin FD, Kanematsu S, Seraydarian K, Suh M. Effect of chronic nicotine administration and age in male Fisher-344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 26: 606-620, 1973
  - 32) Riebe M, Westphal K, Fortnagel P. Mutagenicity testing, in bacterial test system, of some constituents of tobacco. *Mutat Res* 101: 39-43, 1982
  - 33) Livingston GK, Fineman RM. Correlation of human lymphocytes SCE frequency with smoking history. *Mutat Res* 119: 59-64, 1983
  - 34) Hopkin JM, and Evans HJ. Cigarette-smoke induce DNA damage and lung cancer risks. *Nature (London)* 283: 388-390, 1980
  - 35) Dewdney RS, Lovell DP, Jenkinson PC, Anderson D. Variations in sister chromatid exchange among 106 members of the general U.K. population. *Mutat Res* 171: 43-51, 1986
  - 36) Mirvish SS, Wallcave L, Eagen M, Shubik P. Ascorbate-nitrite reaction: possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compounds. *Science* 177: 65-68, 1975

- 37) Moore DH, Carrano AV. Statistical analysis of high SCE frequency cells in human lymphocytes. in: Tice RR, Hollaender (Eds), *Basic Life Sciences*, vol 29, Plenum, New York, pp.469-479, 1984
- 38) Husgafrel-Pursiainen K. Sister-chromatid exchange and cell proliferation in cultured lymphocytes of passively and actively smoking restaurant personnel, *Mutat Res* 190: 211-215, 1987
- 39) Bohr VA, Evans MK, Formance AJ Jr. Biology of disease: DNA repair and its pathogenic implications. *Lab Invest* 61: 143-161, 1989
- 40) Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362: 709-715, 1993
- 41) Singh NP, Danner DB, Tice RR, Brant L, Schneider EL. DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes. *Mutat Res* 237: 123-130, 1990
- 42) Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JD, Brant L, Morrell CH, Schneider EL. Basal DNA damage in individual human lymphocytes with age. *Mutat Res* 256: 1-6, 1991
- 43) Schmidt MA, Sanger WG. Sister chromatid exchange in aged lymphocytes. A brief note. *Mech Aging Develop* 16: 67-70, 1981
- 44) Yu BP, Suescun EA, Yang SY. Effect of age-related lipid peroxidation on membrane fluidity and phospholipase A2: modulation by dietary restriction. *Mech Aging Dev* 65: 17-33, 1992
- 45) Das BC, Rani R, Mitra AB, Luthra UK. Baseline frequency of sister chromatid exchange (SCE) in newborn lymphocytes and its relationship to in vivo aging in humans. *Mutat Res* 144: 85-88, 1985
- 46) Carrano AV, Natarajan At. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat Res* 204: 379-406, 1988
- 47) Tice RR, Setlow RB. DNA repair and replication in aging organism and cells. In Finch CE and Schneider EL (eds) *Handbook of the Biology of Aging*. Van Nostrand Reinhold, New York, pp.173-224, 1985
- 48) Duthie SJ, Ma A, Ross MA, Collins a. Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res* 56: 1291-1295, 1996