

수종의 생약이 과산화수소에 의한 Hypoxanthine-guanine Phosphoribosyl Transferase (HPRT) 유전자 돌연변이 억제에 미치는 효과

유호진 · 우은란¹

조선대학교 의과대학, ¹약학대학 501-759 광주 광역시 동구 서석동 375

The Suppressive Effect of Medicinal Herbs on the H₂O₂-Induced Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyl Transferase (HPRT) Mutation

Ho Jin You and Eun-Rhan Woo¹

Chosun University School of Medicine, ¹College of Pharmacy, Chosun University,
375 Seosuk-dong, Dong-ku, Gwangju 501-759, Korea

Abstract – DNA damage induced by reactive oxygen species (ROS) seems to play an important role in the induction of mutation and cancer. Hydrogen peroxide (H₂O₂) has been shown to induce a variety of genetic alterations, probably by the generation of hydroxyl radicals via Fenton reaction. In this study, we examined the ability of medicinal herbs in the suppression of H₂O₂-induced mutagenesis. Human fibroblast GM00637 cells were treated with H₂O₂ in the presence or absence of medicinal herbs, and H₂O₂-induced mutant frequency was measured at the hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) locus. Treatment of cells with various doses of H₂O₂ caused a significant increase of the HPRT mutant frequency. However, pre-treatment of cells with several medicinal herbs reduced H₂O₂-induced mutant frequency. The strong antimutagenic effects were observed from the methylene chloride and ethyl acetate fractions of *Selaginella tamariscina*, *Panax ginseng*, and *Angelica acutiloba*; ethyl acetate fractions of *Rehmania glutinosa*, *Leonurus sibiricus*, *Curcuma zedoaria* and *Commiphora molmol*; butanol fractions of *Scutellaria barbata*, *Tribulus terrestris*, *Curcuma zedoaria*, *Cyperus rotundus* and *Carthamus tinctorius*, which were more than 60% inhibition of H₂O₂-induced mutant frequency at the HPRT locus.

Key words – ROS, H₂O₂, Mutation, Medicinal herbs, Antimutagenic effect

대부분의 생물체는 유전정보를 세포내 유전자에 보관하고 있으며, 이러한 정보는 복제되어 다음 세대로 전해지고 있다. 이러한 전달과정은 정확한 유전자 복제와 정밀한 염색체 분열을 통하여 진행되고 있으며, 이러한 과정을 통하여 세포는 발생할 수도 있는 돌연변이수를 최대한 줄이며 자연적으로 생존하는 능력을 갖는다.¹⁾ 이를 위하여 세포는 유전자 손상에 대한 유전자 손상 체크 시스템 및 유전자 복구 시스템을 가동시키고 있으며 이러한 시스템을 이용하여 혹시 발생할지 모르는 유전자 돌연변이를 최대한 억제하고 있다.^{1,2)} 그러나 유전자 돌연변이를 유발시키는 어떠한 환경 예를 들면 자외선, 방사선, 산소라디칼 및 여러 종류의 돌연변이원 등에 유전자가 노출될 경우 생물체는 유전자 복구 시스템에 의하여 복구 가능한 한계를 넘어 결국 돌연변

이로 이어지게 된다. 이러한 유전자 돌연변이는 여러 질환 특히 암 유발 및 노화 촉진 등을 일으키는 것으로 잘 알려져 있다.³⁾

과산화수소는 산화성 스트레스를 유발하는 유해 산소종의 하나로서 이들은 세포내 DNA를 공격하여 여러 종류의 염기를 손상시킴으로써 돌연변이를 유발시키는 것으로 알려져 있다.^{4,9)} 이들 변성 염기 중 8-oxoguanine (8-hydroxy-guanine; 8-oxoG)은 유해산소에 의하여 guanine의 8번 탄소에 수산화 반응이 일어난 대표적인 산화성 DNA 손상물이다.¹⁰⁾ 8-oxoG는 유해 산소종에 의하여 세포내에서 쉽게 그리고 다량으로 생성되며 DNA에 돌연변이를 유발시킴으로써 현재 유해산소에 의하여 야기되는 발암과 노화과정의 주요 매개인자로 작용하고 있다.¹¹⁻¹⁴⁾ DNA에 돌연변이를 유발하는 8-oxoG의 생성경로는 세포 내부의 대사 및 에너지 생성과정에서 생성되는 경우와 자외선 및 화학물질 등 외부의 원인에 의하여 발생하는 경우로 설명되고 있다.¹⁵⁾

*교신저자(E-mail) : wooer@chosun.ac.kr
(FAX) : 062-222-5414

따라서 유전자 돌연변이를 억제하는 물질을 찾는 연구는 궁극적으로 돌연변이 억제를 통하여 암 발생을 억제하는 새로운 개념의 항암제 개발에 중요한 기초적인 자료가 될 것으로 여겨진다. 한방에서는 질병의 치료에 부정거사법을 활용하고 있으며 암의 치료에 있어서는 부정거사외에 활혈화어(活血化瘀)방법이 주로 병용되고 있다. 본 연구에서는 천연물로부터 돌연변이 억제를 통하여 암 발생을 억제하는 신 개념의 항암제 개발을 위하여 한방에서 활혈화어(活血化瘀)활성이 있는 것으로 알려진 25종의 약재를 선택하여 이들의 추출물 및 분획물이 과산화수소에 의한 유전자 돌연변이 발생 억제에 어떠한 영향을 주는지를 유전자 HPRT 변성률을 이용하여 측정하였기에 이에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 생약은 원광대학교 한의과대학 우원홍 교수 연구실에서 구입하여 보내온 것으로 전문가의 정확한 감정을 거친 후 실험재료로 사용하였으며 표본은 현재 조선대학교 약학대학 표본실에 보관중이다.

추출 분획 및 시료의 제조 - 생약재료를 적당히 세절한 후 600 g을 평량하여 1.5배 용적의 MeOH을 넣고 실온에서 5일간 3회 추출하였다. 여과한 후 여액을 모아 40°C 이하의 수욕상에서 감압농축한 후 일정량을 활성 검색용으로 남겨 두고 남은 MeOH 추출물을 증류수에 현탁하고 이어서 CH₂Cl₂, EtOAc, *n*-BuOH의 용매로 차례로 분획하였다. 각각의 분획과정은 3회를 반복하였고 얻어진 유기용매층은 물로 세척하고 이어서 무수 Na₂SO₄로 탈수한 후 40°C 이하의 수욕상에서 감압농축하였다. 완전히 건조된 추출물은 0.05%의 DMSO에 녹여 활성검색에 사용하였다.

세포배양 - 본 실험에 사용된 세포는 사람의 상피세포인 GM00637 세포로서 DMEM 배양액에 10% FBS를 넣은 후 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다.

HPRT 돌연변이 발생률 측정 방법 - 세포배양 용기에 75% 정도 세포가 자랐을 때 HAT 배양액 (100 μM hypoxanthine, 0.4 μM aminopterin, and 16 μM thymidine)에 15% FBS가 포함된 배지에 5 × 10⁵의 세포를 넣고 2주간 세포를 배양시킨 후 생약 추출물들을 배양액에 넣었다. 24시간 후에 25 μM 과산화수소를 투여하여 30분간 더 배양시킨 후 새로운 HAT 배양액으로 바꿔 배양시켰다. 약 10일후 (세포가 75% 정도 되는 시기임) 0.7 × 10⁵의 세포를 다시 세포배양 용기에 넣은 후 40 μM 6-thioguanine (6-TG)이 포함되어 있는 HAT 배양액으로 바꿔 세포를 배양 시킨 후 6-TG에 저항성을 가진 세포를 메탄올로 염색하여 콜론 숫자를 세었다. 클로닝 hypoxanthine guanine phosphoribosyl-

transferase (HPRT) 돌연변이율은 6-TG첨가 배양액에 생존하는 콜로니 수 x 세포수⁻¹ x 클로닝 효율⁻¹로 계산하였다.¹⁶⁾ 모든 데이터는 평균 ± 표준편차로 표시하였다. 그룹간의 통계처리는 Student *t*-test를 사용하였으며 *P* 값이 0.05 이하인 경우 통계적으로 의의가 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 활혈화어 활성이 있는 것으로 알려진 25종의 생약에 대한 메탄올(M) 추출물, 메틸렌클로라이드(D), 에틸아세테이트(E), 부탄올(B), 물(H) 분획물을 첨가한 HAT 배양액에 각각 25 μM의 과산화수소를 투여한 후 HPRT 유전자 돌연변이 발생 억제활성을 조사하였다. 그 결과 권백, 당귀, 유향, 인삼, 향부자의 메탄올 추출물, 권백, 당귀, 몰약, 반지련, 백질려, 봉출, 생지황, 오령지, 우슬, 유향, 익모초, 인삼, 향부자, 홍화의 메틸렌클로라이드 분획, 권백, 당귀, 몰약, 생지황, 유향, 익모초, 인삼, 향부자의 에틸아세테이트 분획, 권백, 반지련, 백질려, 봉출, 오령지, 인삼의 부탄올 분획, 그리고 권백, 인삼, 향부자의 물 분획이 대조군에 비하여 최소 40% 이상의 유전자 돌연변이 억제능을 나타내었다(Table I). 즉 물 또는 DMSO를 투여한 대조군에 25 μM 과산화수소를 투여한 후 HPRT 유전자 돌연변이 발생률을 측정한 결과 각각 245 ± 54 × 10⁻⁷, 225 ± 51 × 10⁻⁷이었다. 이에 비하여 권백 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 105 ± 18 × 10⁻⁷, 메틸렌클로라이드 분획이 83 ± 17 × 10⁻⁷, 에틸아세테이트 분획이 68 ± 14 × 10⁻⁷, 부탄올 분획이 102 ± 31 × 10⁻⁷로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 48%, 62%, 69%, 53% 감소하였다. 당귀 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 112 ± 32 × 10⁻⁷, 메틸렌클로라이드 분획이 85 ± 23 × 10⁻⁷, 에틸아세테이트 분획이 68 ± 11 × 10⁻⁷로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 49%, 61%, 69% 감소하였다. 몰약 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 114 ± 27 × 10⁻⁷, 에틸아세테이트 분획이 73 ± 19 × 10⁻⁷, 부탄올 분획이 142 ± 29 × 10⁻⁷로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 48%, 66%, 35% 감소하였다. 반지련 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 176 ± 44 × 10⁻⁷, 메틸렌클로라이드 분획이 108 ± 26 × 10⁻⁷, 부탄올 분획이 85 ± 18 × 10⁻⁷로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 30%, 51%, 61% 감소하였다. 백질려 메틸렌클로라이드 분획의 유전자 돌연변이 발생률은 113 ± 25 × 10⁻⁷, 부탄올 분획이 87 ± 23 × 10⁻⁷로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 46%, 60% 감소하였다. 봉출 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 181 ± 38 × 10⁻⁷, 메틸렌클로라이드 분획이 102 ± 31 × 10⁻⁷, 부탄올 분획이 85 ± 31 × 10⁻⁷로 대

Table I. Summary of H₂O₂-induced mutant frequencies at the HPRT locus

Plant	Part	Family	Frac. ^{a)}	Mutant frequency ($\times 10^{-7}$) ^{b)}
<i>Selaginella tamariscina</i> (권백)	Whole plant	Selaginellaceae	M	105 ± 18
			D	83 ± 17*
			E	68 ± 14*
			B	102 ± 31
			H	213 ± 49
<i>Euonymus alatus</i> (귀전우)	Stem bark	Celastraceae	M	195 ± 36
			D	206 ± 49
			E	180 ± 42
			B	175 ± 37
			H	199 ± 54
<i>Salvia miltiorrhiza</i> (단삼)	Root	Labiatae	M	231 ± 66
			D	254 ± 59
			E	219 ± 62
			B	207 ± 65
			H	198 ± 52
<i>Angelica acutiloba</i> (당귀)	Root	Umbelliferae	M	112 ± 32
			D	85 ± 23*
			E	68 ± 11*
			B	195 ± 33
			H	215 ± 46
<i>Rheum palmatum</i> (대황)	Root	Polygonaceae	M	228 ± 31
			D	229 ± 27
			E	241 ± 42
			B	208 ± 28
			H	231 ± 32
<i>Paeonia moutan</i> (목단)	Root bark	Paeoniaceae	M	201 ± 46
			D	197 ± 39
			E	180 ± 23
			B	184 ± 36
			H	195 ± 48
<i>Commiphora molmol</i> (몰약)	Resin	Bursaceae	M	114 ± 27
			D	189 ± 41
			E	73 ± 19*
			B	142 ± 29
			H	191 ± 47
<i>Scutellaria barbata</i> (반지련)	Whole plant	Labiatae	M	176 ± 44
			D	108 ± 26
			E	207 ± 39
			B	85 ± 18*
			H	219 ± 45
<i>Tribulus terrestris</i> (백질려)	Fruit	Zygophyllaceae	M	181 ± 47
			D	113 ± 25
			E	211 ± 42
			B	87 ± 23*
			H	204 ± 39

Table I. Continued

Plant	Part	Family	Frac. ^{a)}	Mutant frequency ($\times 10^{-7}$) ^{b)}
<i>Hedyotis diffusa</i> (백화사설초)	Aerial plant	Rubiaceae	M	193 ± 36
			D	202 ± 39
			E	199 ± 34
			B	218 ± 41
			H	225 ± 32
<i>Curcuma zedoaria</i> (봉출)	Rhizome	Zingiberaceae	M	181 ± 38
			D	102 ± 31
			E	197 ± 48
			B	85 ± 31*
			H	199 ± 33
<i>Sparganium erectum</i> (삼릉)	Rhizome	Sparganiaceae	M	238 ± 46
			D	242 ± 51
			E	206 ± 49
			B	197 ± 45
			H	206 ± 44
<i>Rehmania glutinosa</i> (생지황)	Root	Scrophulariaceae	M	186 ± 35
			D	113 ± 22
			E	83 ± 20*
			B	194 ± 31
			H	201 ± 49
<i>Trogopterus xanthipes</i> (오령지)	Faeces	Petauristidae	M	183 ± 31
			D	115 ± 25
			E	197 ± 39
			B	96 ± 24
			H	209 ± 43
<i>Melandryum firmum</i> (왕불유행)	Whole plant	Caryophyllaceae	M	215 ± 43
			D	204 ± 31
			E	235 ± 46
			B	239 ± 42
			H	207 ± 35
<i>Achyranthes bidentata</i> (우슬)	Root	Amaranthaceae	M	201 ± 41
			D	121 ± 30
			E	198 ± 41
			B	205 ± 42
			H	212 ± 55
<i>Boswellia carterii</i> (유향)	Resin	Bruseraceae	M	93 ± 20
			D	189 ± 41
			E	82 ± 13*
			B	142 ± 29
			H	191 ± 47
<i>Leonurus sibiricus</i> (익모초)	Aerial part	Labiatae	M	171 ± 36
			D	105 ± 29
			E	88 ± 21*
			B	209 ± 37
			H	219 ± 31

Table I. Continued

Plant	Part	Family	Frac. ^{a)}	Mutant frequency ($\times 10^{-7}$) ^{b)}
<i>Panax ginseng</i> (인삼)	Root	Araliaceae	M	109 ± 24
			D	82 ± 21*
			E	69 ± 11*
			B	151 ± 39
			H	103 ± 26
<i>Paeonia lactiflora</i> (작약)	Root	Paeoniaceae	M	223 ± 36
			D	219 ± 41
			E	225 ± 39
			B	231 ± 52
			H	239 ± 56
<i>Poncirus trifoliata</i> (지실)	Fruit	Rutaceae	M	183 ± 39
			D	210 ± 44
			E	227 ± 48
			B	206 ± 42
			H	197 ± 44
<i>Cnidium officinale</i> (천궁)	Rhizome	Umbelliferae	M	192 ± 36
			D	177 ± 29
			E	191 ± 38
			B	188 ± 40
			H	205 ± 41
<i>Cyperus rotundus</i> (향부자)	Rhizome	Cyperaceae	M	115 ± 29
			D	93 ± 21*
			E	142 ± 42
			B	87 ± 16
			H	215 ± 39
<i>Corydalis ternata</i> (현호색)	Tuber	Papaveraceae	M	255 ± 63
			D	247 ± 59
			E	251 ± 61
			B	238 ± 56
			H	241 ± 53
<i>Carthamus tinctorius</i> (홍화)	Semen	Compositae	M	175 ± 31
			D	99 ± 22
			E	193 ± 41
			B	82 ± 19*
			H	191 ± 47
Water				245 ± 54
DMSO				225 ± 51

Mutant frequencies are presented as Mean±SD.

*Statistically 60% decrease below control ($P < 0.05$)

^{a)}M : MeOH ext., D : CH₂Cl₂ frac., E : EtOAc frac., B : n-BuOH frac., H : H₂O frac.

^{b)}Induced mutant frequency at the HPRT locus untreated control mutant frequencies subtracted from treated mutant frequencies

조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 17%, 53%, 61% 감소하였다. 생지황 메탄올 추출물에서 유전자 돌연변이 발생률은 $186 \pm 35 \times 10^{-7}$, 메틸렌클로라이드 분획이 $113 \pm 22 \times 10^{-7}$, 에틸아세테이트 분획이 $83 \pm 20 \times 10^{-7}$ 로 대조군에 비

하여 돌연변이 발생률이 각각 15%, 48%, 62% 감소하였다. 오령지 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 $183 \pm 31 \times 10^{-7}$, 메틸렌클로라이드 분획이 $115 \pm 25 \times 10^{-7}$, 부탄올 분획이 $96 \pm 24 \times 10^{-7}$ 로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이

각각 16%, 47%, 56% 감소하였다. 우술 메틸렌크로라이드 분획의 유전자 돌연변이 발생률은 $121 \pm 30 \times 10^{-7}$ 으로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 45% 감소하였다. 유황 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 $93 \pm 20 \times 10^{-7}$, 에틸아세테이트 분획이 $82 \pm 13 \times 10^{-7}$, 부탄올 분획이 $142 \pm 29 \times 10^{-7}$ 로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 57%, 62%, 35% 감소하였다. 익모초 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 $171 \pm 36 \times 10^{-7}$, 메틸렌크로라이드 분획이 $105 \pm 29 \times 10^{-7}$, 에틸아세테이트 분획이 $88 \pm 21 \times 10^{-7}$ 로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 22%, 52%, 60% 감소하였다. 인삼 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 $109 \pm 24 \times 10^{-7}$, 메틸렌크로라이드 분획이 $82 \pm 21 \times 10^{-7}$, 에틸아세테이트 분획이 $69 \pm 11 \times 10^{-7}$, 부탄올 분획이 $151 \pm 39 \times 10^{-7}$, 물 분획이 $103 \pm 26 \times 10^{-7}$ 로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 50%, 62%, 68%, 31%, 53% 감소하였다. 향부자 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 $115 \pm 29 \times 10^{-7}$, 메틸렌크로라이드 분획이 $93 \pm 21 \times 10^{-7}$, 에틸아세테이트 분획이 $142 \pm 42 \times 10^{-7}$, 부탄올 분획이 $87 \pm 16 \times 10^{-7}$ 으로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 47%, 57%, 35%, 60% 감소하였다. 홍화 메탄올 추출물의 유전자 돌연변이 발생률은 $175 \pm 31 \times 10^{-7}$, 메틸렌크로라이드 분획이 $99 \pm 22 \times 10^{-7}$, 부탄올 분획이 $82 \pm 19 \times 10^{-7}$ 로 대조군에 비하여 돌연변이 발생률이 각각 20%, 55%, 62% 감소하였다.

결 론

이상 본 연구에서는 활혈화어 활성이 있는 것으로 알려진 125개의 생약제 추출물 및 분획물에 대한 유전자 돌연변이 억제활성을 검색하였다. 암 발생은 일반적으로 한가지 원인에 의하여 발생하지 않고 여러가지 인자의 복합적인 작용에 의하여 발생하리라 여겨지고 있다. 본 연구에서 관찰한 유해산소에 의한 돌연변이는 모두 정상적인 세포를 암세포로 전환시킬 수 있는 강력한 원인으로 판단된다. 따라서 이들 활성분획으로부터 유해산소에 의한 돌연변이를 억제시킬 수 있는 물질을 찾을 수 있다면 향후 항암제 개발에 중요한 단서를 제공하리라 여겨진다. 본 연구에서는 활혈화어 활성이 있을 것으로 평가되는 25종의 약재로부터 조제된 125종의 분획으로부터 강력한 돌연변이 억제능 (60% 이상)을 지닌 권백의 메틸렌크로라이드 분획 및 에틸아세테이트 분획, 당귀의 메틸렌크로라이드 분획 및 에틸아세테이트 분획, 반지련, 백질려, 봉출의 부탄올 분획, 생지황의 에틸아세테이트 분획, 익모초의 에틸아세테이트 분획, 인삼의 메틸렌크로라이드 분획 및 에틸아세테이트 분획, 향부자의 부탄올 분획, 홍화의 부탄올 분획, 유황 및 몰약의 에틸아세

테이트 분획을 규명하였는데, 이들 분획들은 향후 돌연변이 억제제를 위한 물질을 분리하는데 중요한 단서를 제공할 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업(HMP-99-O-01-0003)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Sarasin, A. (2003) An overview of the mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis *Mutat. Res.* **544**: 99-106.
2. Kai, M. and Wang, T. S. (2003) Checkpoint responses to replication stalling: inducing tolerance and preventing mutagenesis. *Mutat. Res.* **532**: 59-74.
3. Christmann, M., Tomicic, M. T., Roos, W. P., and Kaina, B. (2003) Mechanisms of human DNA repair: an update. *Toxicology* **193**: 3-34.
4. Nakayama, T., Kaneko, M., Kodama, M., and Nagata, C. (1985) Cigarette smoke induces DNA single-strand breaks in human cells. *Nature* **314**: 462-464.
5. Halliwell, B. and Aruoma, O. I. (1991) DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.* **281**: 9-19.
6. Breimer, L. H. (1990) Molecular mechanisms of oxygen radical carcinogenesis and mutagenesis: the role of DNA base damage. *Mol. Carcinog.* **3**: 188-197.
7. Dizdaroglu, M. (1991) Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic. Biol. Med.* **10**: 225-242.
8. Feig, D. I., Reid, T. M., and Loeb, L. A. (1994) Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res.* **54**: 1890-1894.
9. Wiseman, H. and Halliwell, B. (1996) Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J.* **313**: 17-29.
10. Cadet, J., Berger, M., Douki, T., and Ravanat, J. L. (1997) Oxidative damage to DNA: formation, measurement, and biological significance. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **131**: 1-87.
11. Shibutani, S., Takeshita, M., and Grollman, A. P. (1991) Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxoG. *Nature* **349**: 431-434.
12. Cheng, K. C., Cahill, D. S., Kasai, H., Nishimura, S., and Loeb, L. A. (1992) 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G-T and A-C substitutions. *J. Biol. Chem.* **267**: 166-172.
13. Grollman, A. P. and Moriya, M. (1993) Mutagenesis by 8-

- oxoguanine: an enemy within. *Trends Genet.* **9**: 246-249.
14. Bjoras, M., Luna, L., Johnsen, B., Hoff, E., Haug, T., Rognes, T., and Seeberg, E. (1997) Opposite base-dependent reactions of a human base excision repair enzyme on DNA containing 7,8-dihydro-8-oxoguanine and abasic sites. *EMBO J.* **16**: 6314-6322.
15. Wood, M. L., Dizdaroglu, M., Gajewski, E., and Essigmann, J. M. (1990) Mechanistic studies of ionizing radiation and oxidative mutagenesis: Genetic effects of a single 8-hydroxyguanine (7-hydro-8-oxoguanine) residue inserted at a unique site in a viral genome. *Biochemistry* **29**: 7024-7032.
16. Glaab, W. E. and Tindall, K. R. (1997) Mutation rate at the HPRT locus in human cancer cell lines with specific mismatch repair-gene defects. *Carcinogenesis* **18**: 1-8.

(2004년 1월 2일 접수)