

## 사람 백혈구 및 위 조직중의 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine 측정에 관한 연구

강호일\* · 엄미옥 · 박미선 · 염태경 · 지승완 · 전해명<sup>1</sup> · 김옥희  
국립독성연구원 유전독성과  
<sup>1</sup>카톨릭대학교 의과대학 일반외과

### Detection of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine in Human Peripheral Blood Leukocytes and Stomach Tissues

Hoil Kang\*, Mi Ok Eom, Misun Park, Tai Kyung Ryeom, Seung Wan Jee, Hea Myung Jeon<sup>1</sup>, and Ok Hee Kim

Division of Genetic Toxicology, National Institute of Toxicological Research

<sup>1</sup>Department of General Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea

(Received February 1, 2005 / Accepted March 21, 2005)

In the present study, we have measured 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA of stomach cancers, adjacent stomach cancer tissues, normal stomach tissues and peripheral blood leukocytes of the same stomach cancer patients (n = 48) to investigate their etiological association with gastric cancer and possibility whether peripheral blood leukocytes can use surrogate marker for early stomach cancer diagnosis by HPLC/ECD system. In normal stomach tissues, we found that 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in tissues infected with *Helicobacter pylori* were 1.4 fold higher than those in tissues without infected with *Helicobacter pylori*. However, in adjacent stomach cancer tissues, we found that 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in tissues infected with *Helicobacter pylori* were 1.5 fold lower than those in tissues without infected with *Helicobacter pylori*. In stomach cancer tissues, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in tissues infected with *Helicobacter pylori* were not significantly different from those in tissues without infected with *Helicobacter pylori*. In *Helicobacter pylori*-negative specimens, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels of adjacent stomach cancer tissues were found to be significantly higher than those of normal stomach and cancer tissues. The 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels of female were 1.7 fold higher than those of male in peripheral blood leukocytes of the same stomach cancer patients. The 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in *Helicobacter pylori*-negative specimens among adjacent stomach cancer tissues were found to be reversely correlated with those in peripheral blood leukocytes, suggesting that 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in peripheral blood leukocytes may not use as surrogate marker for the early diagnosis of human stomach cancer.

Key words : 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, human stomach cancers, *Helicobacter pylori*, HPLC/ECD

### 서 론

현재까지의 보고에 의하면, 한국인에게 가장 많이 발병하는 것으로 알려진 위암의 경우, 원인은 정확하게 알려져 있지 않지만 소화성 궤양 혹은 만성 위염의 발병요인으로 알려진 *Helicobacter pylori*가 위암과 밀접한 관련성이 있는 것으로 보고되어 있다 (Hahm *et al.*, 1988; Correa, 1995). 또한 국제암연구기관 (IARC)에서도 *Helicobacter pylori*를 Human carcinogen으로 분류해 놓고 있으며.

*Helicobacter pylori*에 감염되면 감염되지 않은 조직에 비하여 위암의 발생확률이 약 4배정도 증가하는 것으로 알려져 있다 (IARC, 1994). 그 외에도 한국인이 주로 많이 섭취하는 절인 음식, 흡연, 음주, 방사선 조사, 위내 낮은 아스코르브산, atrophic gastritis 등이 위암의 주요한 발암요인으로 추정되어지고 있다 (Banerjee *et al.*, 1994; Correa, 1988; Nomura *et al.*, 1996; Tsugane *et al.*, 1994).

최근 발암기전에 대한 분자생물학적인 이해가 증진되면서 산화적 스트레스가 사람 발암과정에 관여되고 있는 것이 보고되고 있다 (Dreher *et al.*, 1996). 산화적 스트레스는 환경 중에 존재하는 다양한 발암물질, 그리고 방사선 등에 의

\*To whom correspondence should be addressed

해서 발생될 뿐만 아니라 세포내의 식세포 작용에 의해 발생되며, singlet oxygen, superoxide anion, hydrogen peroxide, nitric oxide 등과 같은 활성산소 (reactive oxygen species)에 의해서도 유발되는 것으로 알려져 있다 (Halliwell *et al.*, 1991). 활성산소는 주로 세포내 DNA에 부가체 형성 등 여러 형태의 손상을 입히는데, 산화적 스트레스에 의해 생성되는 다양한 DNA 부가체중에서 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)은 산화적 스트레스에 대하여 감수성이 높은 생체지표 (biomarker)로서 잘 알려져 있다 (Kasai *et al.*, 1991; Shigenaga *et al.*, 1991). 그 외에도 8-OHdG는 *in vitro* 및 *in vivo* 연구에서 염기복제 시 염기대합의 잘못 (base mis-pairing)으로 점 돌연변이 (GC→TA transversion mutation)를 일으킨다는 것이 알려져 있다 (Shibutani *et al.*, 1991; Wood *et al.*, 1990; Moriya *et al.*, 1991; Kamiya *et al.*, 1992; Cheng *et al.*, 1992; Hollstein *et al.*, 1991).

따라서 사람의 생체 조직 중에 존재하는 8-OHdG를 측정하는 것은 특정 개인이 어느 정도 산화적 스트레스에 노출되어 있는가에 대한 생물학적인 지표로 사용할 수 있고 또한 장래에 특정 개인의 발암 유발 가능성의 진단 및 위암 조기 진단법에도 응용될 수 있는 점 등에 있어서 의학적으로 대단히 중요한 의미를 지니고 있다고 생각할 수 있다. 지금까지 정상인 및 암환자의 말초혈액, 위, 간, 유방, 폐의 정상조직 및 암 조직 중에 8-OHdG가 검출되었으나 (Takeuchi *et al.*, 1994; Asami *et al.*, 1996; Beik *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 1998; Shimoda *et al.*, 1994; Malins *et al.*, 1991; Nagashima *et al.*, 1995; Jaruga *et al.*, 1994), 동일인의 혈액, 정상조직, 암 조직 및 암 주위조직을 사용하여 8-OHdG를 비교 분석한 보고는 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 산화적 스트레스와 사람 위암발생과의 상관관계를 규명하고, 혈액중의 백혈구를 위암 조기 진단의 대리지표 (surrogate marker)로 사용할 수 있는지를 연구하기 위해 위암환자의 혈액, 정상 위조직, 위암조직 및 위암 주위조직중의 8-OHdG를 HPLC/ECD 방법으로 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 및 시약

Nuclease P1, 8-OHdG는 Sigma Chemical 회사 (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, alkaline phosphatase는 Boehringer Mannheim 회사 (Germany), DNA purification kit는 Promega 회사 (Madison, WI, USA), ultrafree MC BIOMAX-10은 Millipore 회사 (Bedford, MA, USA), reverse phase column은 Beckman 회사 (Fullerton, CA, USA),

CLOtest kit는 TRI-MED Specilities 회사 (Draper, UT, USA)로부터 각각 구입하였다. 그 외의 모든 시약은 특급을 사용하였으며 HPLC 전용 MeOH 및 H<sub>2</sub>O는 TEDIA 회사 (Fairfield, OH, USA)로부터 구입하였다.

### 혈액 및 위조직의 입수

여의도 성모병원으로부터 위암 수술을 받은 48명 (남자 37명, 여자 11명)의 환자로부터 입수하였으며, 동일인의 혈액, 정상 위조직, 위암조직 및 위암 주위조직을 세트로 함께 입수하였다. 이들 혈액 및 위 조직들은 수술 후 DNA를 추출할 때까지 -80°C에 보관하였다.

### *Helicobacter pylori* 의 감염 분석

*Helicobacter pylori* 의 감염여부를 관찰하기 위해서 *Helicobacter pylori*의 Urease 효소검출용 시약인 CLO test 키트를 사용하였다. CLO test slide를 반응 전에 30~40°C에 두었다가 위암조직을 2~3 mm 채취하여 slide에 넣은 후 37°C에서 1시간, 3시간 및 24시간 간격으로 색의 변화를 관찰하여 *Helicobacter pylori*에 대한 감염여부를 판정했다. *Helicobacter pylori*에 대한 감염여부는 37°C에서 3시간 후에 노란색에서 분홍색으로 변화했을 경우 확실한 양성으로 판정하였다.

### DNA 분리와 8-OHdG 분석

위암환자의 혈액과 위 조직으로부터 DNA를 추출하는 실험은 일반의 Phenol 추출과정 중에 생길 수 있는 DNA의 산화를 피하기 위하여 Wizard Genomic DNA Purification System을 사용하여 분리하였다. 최종적으로 TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.0)에 녹인 후, DNA (150 µg)에 nuclease P1 (7.5 U)을 가해 65°C, pH 5.0에서 30분간 반응시켜 mononucleotide로 가수분해하였다. 그 다음 Tris-HCl 용액으로 반응액의 pH를 8.0으로 조정하고 37°C에서 1시간동안 alkaline phosphatase (4.5 U)로 처리하여 phosphate 부분을 제거한 후 HPLC/ECD 법으로 4종류의 뉴클레오시드 및 8-OHdG를 분석하였다. 본 실험에서 사용한 HPLC는 프랑스의 Gilson 회사의 제품 (model 805 solvent delivery pump, model 832 auto-sample injector 및 model VE 5/133 absorbance detector)을 사용하였고 ECD (electrochemical detector)는 미국의 ESA (model 5020)를 사용하였으며 역상 column은 Beckman회사의 C18 ODC H-80 (4.6×46 mm)을 사용하였다. 그리고 4종류의 뉴클레오시드 및 8-OHdG는 UV 254 nm 및 ECD 320 mV에서 각각 측정하였고 flow rate는 0.5 ml/min, mobile phase는 10 mM sodium acetate, 10% methanol로 하였으며 시료

를 HPLC에 투입하기 전에 Ultrafree MC BIOMAX-10으로 여과하였다.

**통계분석**

실험결과의 통계학적 처리는 unpaired Student's t-test를 사용하였으며,  $p < 0.01$  혹은  $p < 0.05$  수준 이하에서 유의성을 결정하였다.

**결과 및 고찰**

본 연구에서는 위암 환자의 혈액, 정상 위조직, 위암조직 및 위암 주위조직을 이용하여 산화적 스트레스와 사람 위암 발생과의 상관관계를 규명하고, 혈액중의 백혈구를 위암 조기 진단의 대리지표 (surrogate marker)로 사용할 수 있는지를 연구하기 위해 48명의 위암환자로부터 동일인의 혈액, 정상 위조직, 위암조직 및 위암 주위조직을 여의도 성모병원으로부터 제공받아 *Helicobacter pylori*의 감염 및 산화적 스트레스의 생체지표인 8-OHdG를 비교, 조사하였다.

**위조직중의 *Helicobacter pylori*의 감염 분석**

동일인 (48명 위암환자)의 정상 위조직, 위암 (adenocarcinoma)조직 및 위암 주위조직을 사용하였으며 이들 조직으로부터 단백질을 추출한 후 *Helicobacter pylori*의 감염 여부를 알기 위해 CLO test 키트로 분석하였다. CLO test는 포유동물 세포가 Urease 효소를 생산하지 않는 반면 *Helicobacter pylori*는 Urease 효소를 생산하는 원리를 이용하였으며, 위내에는 *Helicobacter pylori*를 제외한 다른 미생물이 거의 존재하지 않기 때문에 *Helicobacter pylori* 박테리아 검출에 특이성이 대단히 높은 것으로 알려져 있다.

그 결과 *Helicobacter pylori*에 대한 양성반응을 보인 조직은 위암환자의 정상 위 조직에서 53%, 위암 조직 중에서 47%, 위암 주위조직에서는 67%로 나타나 위암 및 정상 위 조직에 비해 위암 주위조직에서 *Helicobacter pylori*의 감염율이 가장 높은 것으로 나타났다 (data not shown).

최근의 역학조사 (Rhee *et al.*, 1990; Baik *et al.*, 1996;

Baik *et al.*, 1996)에 의하면 한국인의 경우 *Helicobacter pylori*의 감염은 유아기에 시작되고 보통 5세 정도에 50% 감염이 되며 그 이후에는 감염정도가 증가하는 것으로 보고 되어 있으나, 본 연구에서 조사된 성인의 위암 주위조직의 경우 *Helicobacter pylori*에 대한 감염율은 67% 정도로 나타났다 이 결과는 이전의 보고 (Asami *et al.*, 1996)와 일치하고 있다.

현재 정상 위조직에 비해 위암 주위조직에서 *Helicobacter pylori*의 감염율이 상승했다가 암조직으로 바뀌면서 정상 위 조직보다 *Helicobacter pylori*의 감염율이 감소하는지에 대한 이유는 정확히 알려진 바가 없으며, 향후 이에 대한 추가 실험 및 구체적인 기전연구가 필요할 것으로 사료된다.

**위조직중의 8-OHdG의 측정**

정상 위조직, 위암조직 및 위암 주위조직 중에 산화적 스트레스의 생체지표인 8-OHdG 레벨을 비교하기 위해 동일인 (48명중 남자 37명, 여자 11명)의 위조직을 사용하였다. 이들 위조직으로부터 DNA를 추출한 후 HPLC/ECD 법으로 8-OHdG를 정량한 결과, Table 1에 요약한 바와 같이 정상 위조직에서는  $1.92 \pm 0.79$  residues/ $10^5$ dG, 위암조직에서는  $1.96 \pm 0.33$  residues/ $10^5$ dG, 위암 주위조직에서는  $2.67 \pm 0.74$  residues/ $10^5$ dG로 검출되어 정상 위조직 및 위암조직 사이에는 8-OHdG 레벨 차이가 없는 반면 위암 주위조직에서는 정상 위조직 및 위암조직에 비해 1.4배 높은 것을 발견하였다. 이에 대한 원인으로 위암 주위조직에서 8-OHdG의 생성 및 수복에 관여하는 여러 효소들의 발현변화가 정상 및 위암조직에 비해 현저하게 다르기 때문일 것으로 추정하고 있으나 현재까지 이에 대한 자료는 전혀 없는 상태이다.

또한 정상 위조직에서는 *Helicobacter pylori*에 감염된 조직 ( $2.13 \pm 1.45$  residues/ $10^5$ dG)이 감염되지 않은 조직 ( $1.54 \pm 0.25$  residues/ $10^5$ dG)에 비해 약 1.4배 높게 나타났다. 그러나 위암 주위조직에서는 *Helicobacter pylori*에 감염되지 않은 조직 ( $3.52 \pm 1.83$  residues/ $10^5$ dG)이 감염된 조직 ( $2.26 \pm 0.68$  residues/ $10^5$ dG)에 비해 1.5배 높게 나타났고,

**Table 1.** Summary of the 8-OHdG levels in *Helicobacter pylori*-positive and -negative tissues among normal stomach tissues, gastric adenocarcinoma and tumor surrounding tissues in 48 stomach cancer patients

Tissues	<i>Helicobacter pylori</i> positive tissues	<i>Helicobacter pylori</i> negative tissues	Total
normal stomach tissues	2.13±1.45	1.54±0.25	1.92±0.79
tumor surrounding tissues	2.26±0.68	3.52±1.83	2.67±0.74
gastric adenocarcinoma tissues	1.95±0.45	1.98±0.50	1.96±0.33

Levels of 8-OHdG are expressed as the ratio to  $10^5$ dG  
Data are presented as the mean and standard error for each sample

위암조직의 경우에는 *Helicobacter pylori*에 감염된 조직 ( $1.95 \pm 0.45$  residues/ $10^5$ dG)과 감염되지 않은 조직 ( $1.98 \pm 0.50$  residues/ $10^5$ dG) 사이에 통계학적인 유의차가 없는 것으로 나타났다. 지금까지의 연구보고 (Baik *et al.*, 1996)에 의하면 위점막이 *Helicobacter pylori*에 감염되면 위조직 세포내의

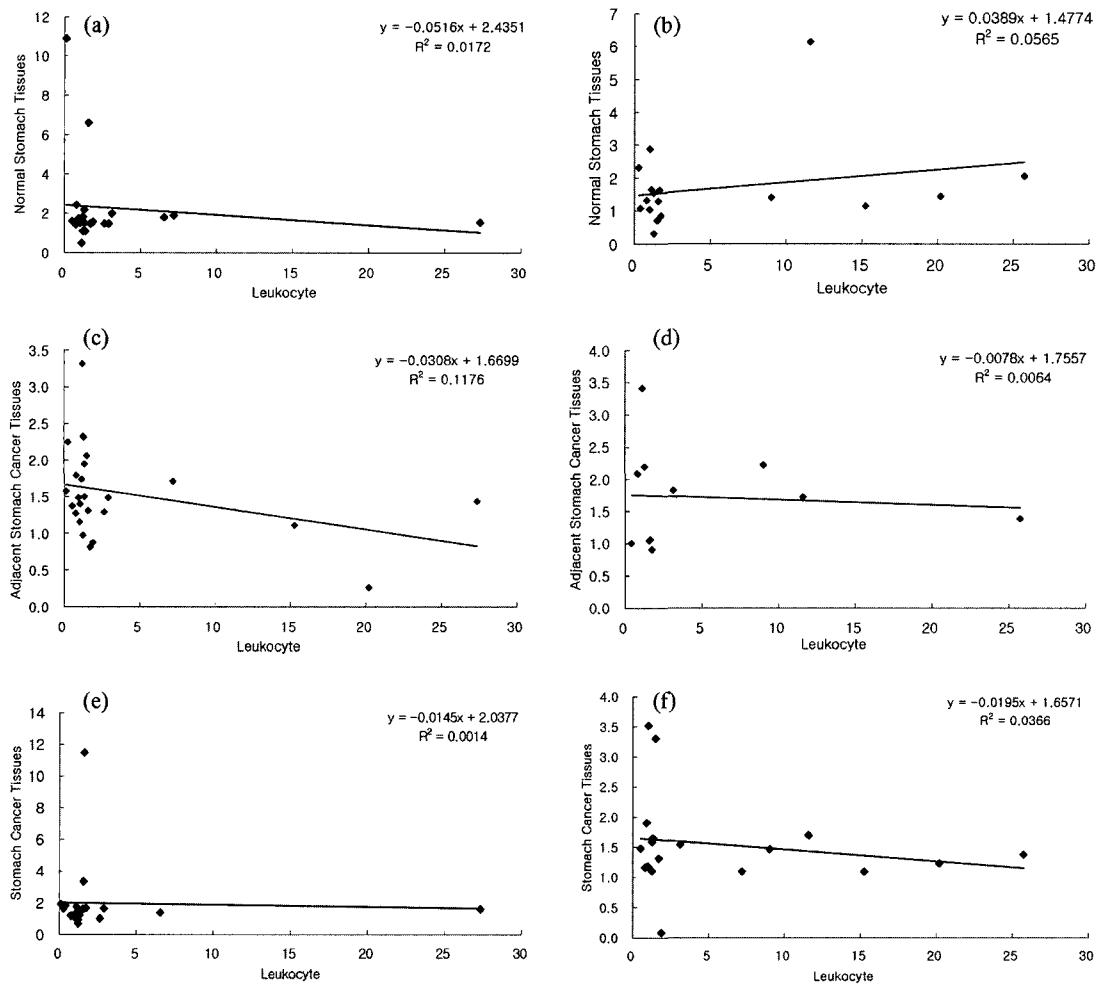
inducible nitric oxide (iNOS)의 발현이 촉진되고 위점막에 침윤된 host macrophages 및 polymorphonuclear leukocytes 들에 의해 활성산소와 nitric oxide의 생산 등이 유발되는 것으로 알려져 있고, 실제로 *Helicobacter pylori*에 감염된 정상 위조직은 감염이 되지 않은 위조직에 비해 8-OHdG의

**Table 2.** Summary of the 8-OHdG levels among peripheral blood leukocytes, normal stomach tissues, gastric adenocarcinoma and tumor surrounding tissues in male and female stomach cancer patients

Tissues	Male	Female	Total
normal stomach tissues	$2.07 \pm 0.97$	$1.86 \pm 0.21$	$1.92 \pm 0.79$
tumor surrounding tissues	$2.26 \pm 0.61$	$3.89 \pm 2.40$	$2.67 \pm 0.74$
gastric adenocarcinoma tissues	$1.78 \pm 0.33$	$2.59 \pm 0.92$	$1.96 \pm 0.33$
peripheral blood leukocytes	$3.65 \pm 1.03$	$5.69 \pm 3.06$	$4.17 \pm 1.08$

Levels of 8-OHdG are expressed as the ratio to  $10^5$ dG

Data are presented as the mean and standard error for each sample



**Fig. 1.** Relationship of 8-OHdG levels between peripheral blood leukocytes and *Helicobacter pylori* positive tissues in normal stomach tissues (a), tumor surrounding tissues (c), gastric adenocarcinoma tissues (e), *Helicobacter pylori* negative tissues in normal stomach tissues (b), tumor surrounding tissues (d), gastric adenocarcinoma tissues (f), respectively.

레벨이 2-3배 높은 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 관찰한 정상 위조직의 경우 보고된 연구결과 (Baik *et al.*, 1996)와 어느 정도 일치하고 있으나, 정상 상태가 아닌 위암 주위조직 및 위암조직의 경우 *Helicobacter pylori* 이의 산화적 스트레스를 증가시키는 다른 주요한 원인들이 있는 것으로 추정된다.

그러나 *Helicobacter pylori*에 감염되지 않은 위조직만을 비교하여 보면 위암 주위조직 (3.52±1.83 residues/10<sup>5</sup>dG), 위암조직(1.98±0.50 residues/10<sup>5</sup>dG), 정상 위조직 (1.54±0.25 residues/10<sup>5</sup>dG) 순으로, 위암 주위조직이 위암조직과 정상 위조직에 비해 가장 8-OHdG 레벨이 높은 것으로 나타난 반면, *Helicobacter pylori*에 감염된 위조직들의 경우에는 정상 위조직, 위암조직과 위암 주위조직 간의 8-OHdG 레벨에 있어서 통계학적인 유의한 차이를 발견할 수 없었다.

한편 성별에 따른 차이를 검토한 결과 Table 2에 요약한 바와 같이 정상 위조직에서는 성별에 따른 차이가 없었으나 위암 및 위암 주위조직에서는 남자에 비해 여자의 경우 8-OHdG 레벨이 1.5-1.8배 각각 높은 것으로 나타났다.

#### 혈액중의 8-OHdG 측정

혈액중의 백혈구를 위암 조기 진단의 대리지표(surrogate marker)로 사용할 수 있는지를 검토하기 위해 위암수술환자의 혈액으로부터 DNA를 분리하여 HPLC/ECD 법으로 8-OHdG를 비교, 정량하였다. 그 결과 Table 2에 요약한 바와 같이 위암환자 혈액으로부터 8-OHdG가 전부 검출되었으며, 남자 (3.65±1.03 residues/10<sup>5</sup>dG)에 비해 여자 (5.69±3.06 residues/10<sup>5</sup>dG)의 8-OHdG 레벨이 평균적으로 1.7배 높은 것을 발견하였다.

한편, 혈액중의 백혈구를 위암 조기 진단의 대리지표(surrogate marker)로 사용할 수 있는지를 검토하기 위해 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 정상 위조직, 위암조직 및 위암 주위조직중의 8-OHdG 레벨을 각각 서로 비교한 결과, 혈액과 *Helicobacter pylori*에 감염된 위암 주위조직과는 역비례적으로 상관성이 있는 것으로 나타났다. 그러나 전반적으로 혈액과 정상 위조직 및 위암조직은 관련성이 없는 것으로 나타나, 향후 혈액중의 8-OHdG를 위암 조기 진단의 대리지표 (surrogate marker)로 사용할 수 있는 가능성은 없어 보인다 (Fig. 1 참조).

결론적으로 위암주위조직이 정상상태 및 악성종양이 아닌 정상조직과 위암 사이의 중간 단계인 점을 고려할 때, 위암 주위조직이 산화적 스트레스를 가장 많이 받고 있는 것으로 보이며, 동물을 이용한 발암실험에서 산화적 스트레스를 억제시키는 항산화제 등을 많이 섭취하면 악성종양으로 가는 길목이 차단되어 최종적으로는 위암발생이 감소한다고 보고

된 지금까지의 연구결과와 일치하는 것으로 보여진다 (Rachmilewitz *et al.*, 1994; Frei *et al.*, 1988).

## 감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청의 기본연구사업비로 수행되었음.

## 참고문헌

- Asami, S., Hirano, T., Yamaguchi, R., Tomioka, Y., Itoh, H. and Kasai, H. (1996): Increase of a type of oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine and its repair activity in human leukocytes by cigarette smoking, *Cancer Res.*, **56**, 2546-2549.
- Baik, S.C., Kim, J.B., Cho, M.J., Kim, Y.C., Park, C.K., Ryou, H.H., Choi, H.J. and Rhee, K.H. (1990): Prevalence of *Helicobacter pylori* infection among normal Korean adults, *J. Korean Soc. Microbiol.*, **25**, 455-462.
- Baik, S.C., Youn, H.S., Chung, M.H., Lee, W.K., Cho, M.J., Ko, G.Y., Park, C.K., Kasai, H. and Rhee, K.H. (1996): Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa, *Cancer Res.*, **56**, 1279-1282.
- Banerjee, S., Hawksby, C., Miller, S. (1994): Effect of *Helicobacter pylori* and its eradication in gastric juice ascorbic acid, *Gut.*, **35**, 317-322.
- Beik, S.C., Youn, H.S., Chung, M.H., Lee, W.K., Cho, M.J., Ko, G.H., Park, C.K., Kasai, H. and Rhee, K.H. (1996): Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori* infected human gastric mucosa, *Cancer Res.*, **56**, 1279-1282.
- Cheng, K., Cahill, D., Kasai, H., Hishimura, S. and Loeb, L. (1992): 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G → T and A → C substitutions, *J. Biol. Chem.*, **267**, 166-172.
- Correa, P. (1995): *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis, *Am. J. Surg. Pathol.*, **19**, S37-S43.
- Correa, P. (1988): A human model of gastric carcinogenesis, *Cancer Res.*, **48**, 3554-3560.
- Dreher, D. and Junod, A. (1996): Role of oxygen free radicals in cancer development, *Eur. J. Cancer*, **32**, 30-38.
- Frei, B., Stocker, R. and Ames, B. (1988): Antioxidant defences and lipid peroxidation in human blood plasma, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 9748-9752.
- Hahm, K., Lee, K., Kim, J., Cho, S. and Chung, M. (1988): *Helicobacter pylori* infection, oxidative DNA damage, gastric carcinogenesis, and reversibility by rebamipide, *Dig. Dis. Sci.*, **43**, 72S-77S.
- Halliwell, B. and Aruoma, O. (1991): DNA damage by oxygen-derived species: its mechanism and measurement in mammalian systems, *FEBS Lett.*, **281**, 9-19.
- Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B. and Harris, C.C. (1991): p53 mutation in human cancers, *Science*, **253**, 49-53.
- IARC. (1994): Schistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori* in IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (IARC ed.), IARC Publications, Lyon,

- pp. 177-241.
- Jaruga, P., Zastawny, T., Skokowski, J., Dizdaroglu, M. and Olin-ski, R. (1994): Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer, *FEBS Lett.*, **341**, 59-64.
- Kamiya, H., Miura, K., Ishikawa, H., Inoue, H., Nishimura, S. and Ohtsuka, E. (1992): c-Ha-ras containing 8-hydroxyguanosine at codon 12 induces point mutations at the modified and adjacent positions, *Cancer Res.*, **52**, 3483-3485.
- Kasai, H., Chung, M.H., Jones, D.S., Inoue, H., Ishikawa, H., Kamiya, H., Ohtsuka, E. and Nishimura, S. (1991): 8-Hydroxyguanine, a DNA adduct formed by oxygen radicals: its implication on oxygen radical-involved mutagenesis/carcinogenesis, *J. Toxicol. Sci.*, **1**, 95-105.
- Lee, B.M., Jang, J.J. and Kim, H.S. (1998): Benzopyrene diol-epoxide-I-DNA and oxidative DNA adducts associated with gastric adenocarcinoma, *Cancer Lett.*, **125**, 61-68.
- Malins, D.C. and Himanot, R. (1991): Major alterations in the nucleotide structure of DNA in cancer of the female breast, *Cancer Res.*, **51**, 5430-5432.
- Moriya, M., Ou, C., Bodepudi, V., Johnson, F., Takeshita, M. and Grollman, A.: Site-specific mutagenesis using a gapped duplex vector (1991): a study on translation synthesis past 8-oxodeoxyguanosine in *E. coli*, *Mutat. Res.*, **254**, 281-288.
- Nagashima, M., Tsuda, H., Takenoshita, S., Nagamachi, Y., Hirohashi, S., Yokoda, J. and Kasai, H. (1995): 8-Hydroxydeoxyguanosine levels in DNA of human breast cancers are not significantly different from those of non-cancerous breast tissues by the HPLC-ECD method, *Cancer Lett.*, **90**, 157-162.
- Nomura, A., Grove, J., Stemmermann, G. and Severson, R. (1996): A prospective study of stomach cancer and its relation to diet, cigarettes and alcohol consumption, *Cancer Res.*, **50**, 627-631.
- Rachmilewitz, D., Karmeli, F. and Elizkim, R. (1994): Enhanced gastric nitric oxide synthase activity in duodenal ulcer patients, *Gut.*, **35**, 1394-1397.
- Rhee, K.H., Youn, H.S., Baik, S.C., Lee, W.K., Cho, M.J., Choi, H.J., Maeng, K.Y. and Ko, K.W. (1990): Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Korea, *J. Korean Soc. Microbiol.*, **25**, 475-490.
- Shibutani, S., Takeshita, M. and Grollman, A. (1991): Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxodG, *Nature*, **349**, 431-434.
- Shigenaga, M. and Ames, B. (1991): Assay for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: a biomarker of *in vitro* oxidative DNA damage, *Free Radical Biol. Med.*, **10**, 211-216.
- Shimoda, R., Nagashima, M., Sakamoto, M., Yamaguchi, N., Hirohashi, S., Yokota, J. and Kasai, H. (1994): Increased formation of oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in human livers with chronic hepatitis, *Cancer Res.*, **54**, 3171-3172.
- Takeuchi, T., Nakajima, M., Ohta, Y., Mure, K., Takeshita, T. and Morimoto, K. (1994): Evaluation of 8-hydroxydeoxyguanosine, a typical oxidative DNA damage, in human leukocytes, *Carcinogenesis*, **15**, 1519-1523.
- Tsugane, S., Tei, Y., Takabashi, T., Watanabe, S. and Sugano, K. (1994): Salty food intake and risk of *Helicobacter pylori* infection, *Jpn. J. Cancer Res.*, **85**, 474-478.
- Wood, M., Dizdarogul, M., Gajewski, E. and Essigmann, J. (1990): Mechanistic studies of ionizing radiation and oxidative mutagenesis: genetic effects of a single 8-hydroxyguanine residue inserted at a unique site in a viral genome, *Biochemistry*, **29**, 7024-7032.