

일부 중금속이 인혈배양 임파구의 염색체이상 및 자매염색분체교환에 미치는 영향

전북대학교 의과대학 예방의학교실

정채득 · 이정상 · 고대하 · 기노석 · 황인담

= Abstract =

Effects of Several Heavy Metals on the Frequencies of Sister Chromatid Exchanges and Chromosomal Aberrations in Human Lymphocytes

Chae Deuk Jung, Jeong Sang Lee, Dai Ha Koh, No Suk Ki, In Dam Hwang

Department of Preventive Medicine and Public Health,
Chonbuk National University College of Medicine

To assay the cytogenetic toxicity of NiCl_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{CdCl}_2$, and HgCl_2 , the frequencies of sister chromatid exchanges(SCEs) and chromosomal aberrations were observed in the metaphase chromosomes of the human lymphocytes which were cultured with above materials.

The frequencies of SCEs are dose-dependently increased by all materials in this experiment. Chromosomal aberrations, especially gap and break, are increased by the nickel and chromic compounds, while not significantly increased by the cadmium and mercurial compounds.

This results indicate the dose dependent relationship between the frequencies of SCEs and the concentrations of the heavy metals, but the increasing rates of the SCEs induced by the heavy metals are less sensitive than other mutagens or carcinogens which were confirmed.

I. 서 론

자연계에 널리 존재하는 금속화합물은 생물발생때부터 깊히 관여하여 생체내에 극미량으로 존재하면서 생리적 물질대사에 영향을 미친다. 그러나 이들 금속들은 결핍 시에 생리적 구조적 이상을 초래하기도 하지만 중독시에는 신체독성을 나타낸다(Stokinger, 1981; 昇, 1984).

한편, 비소(As), 카드뮴(Cd), 코발트(Co), 크롬(Cr), 구리(Cu), 수은(Hg), 망간(Mn), 납(Pb), 안티몬(Sb), 세레니움(Se), 토리움(Th), 바나듐(V), 아연(Zn) 및 니켈(Ni)등의 금속은 직업병의 원인물질로서 공장폐수에 의한 수질오염, 대기오염 및 작업환경에 장기간 폭로되면

이들 유해중금속들은 혈장단백질과 결합되어 신경계, 간장, 신장 등 체내조직에 축적되어 생리적 기능적 장애를 초래하며 형태학적 생화학적 변화를 수반하기도 한다(三澤信一 등, 1985; Stokinger, 1981; WHO, 1973). 이와 같이 환경오염물질에 의한 신체적장애는 산업규모의 확대에 따라 그 피해가 날로 급증하고 있으며 그 예로 카드뮴으로 인한 Itai-Itai병과 수은중독으로 인한 Minamata병 등은 사회문제를 야기하기까지 하여 중금속중독에 대한 경각심을 불러일으킨 바 있다.

중금속중독에 관한 현재까지의 연구는 주로 임상적인 면에서 기질적, 기능적장애와 더불어 환경 및 생체내에서의 농도를 보다 정확하게 측정하려는 경향이있으며

일부 연구자들은 유해중금속들의 혈액, 뇨, 모발중의 농도를 측정함으로써 그 중독여부의 지표로 삼아왔다(Imbus, 1963; Fuwa등, 1964; Mary, 1967; Farrelly등, 1969; Ratcliffe, 1981; 이 등, 1987; 황 등, 1987).

한편 일부 2가 양이온 금속을 포함한 유해중금속의 암유발성은 1930년대부터 알려졌으며(IARC monograph, 1973) 세균과 포유류 배양세포에서의 돌연변이유발(Hueper, 1955; Gilman, 1962; Nishioka, 1975; Miyaki등, 1979), 동물실험 및 사람의 역학조사 결과 암종을 유발하는 것으로 알려져 있다(Paton과 Allison, 1972; Schrauzer, 1978; Miyaki등, 1979; Stokinger, 1981). 이들 중금속에 의한 암종은 비교적 수년간 폭로되어 축적된 결과로서 나타나며 실험동물에서는 발생학적으로 기형을 유발하기도 한다(Michel과 Niggli, 1986; Fox와 Jacobs, 1986).

세포유전학적인 면에서도 Skerfving등(1970)은 유기수은으로 오염된 어류를 섭취한 사람들의 말초혈액 배양임파구에서 정상인보다 높은 염색체이상을 관찰한 바 있으며 Popescu등(1979)도 유기 및 무기수은에 직접적으로 노출된 근로자들에게서 유사한 결과를 보고하였다. Leonard(1986)는 비소를 비롯한 일부 중금속에 노출된 사람에서 염색체이상에 관하여 개관하였으며 그밖에도 니켈제련소 근로자(Waksvik와 Boysen, 1982) 및 니켈화합물 투여한 배양포유류세포(Nishimura와 Umeda, 1979)에서의 염색체이상 유발, 일부 중금속에 의한 정상적인 DNA 합성방해(Tkeshelashvili등, 1980), 크롬(Tsapakos등, 1981)과 니켈(Cicakelli와 Wetterhahn, 1984)에 의한 rat의 간장과 신장세포에서 DNA crosslink등, 중금속이 직접적으로 세포유전학적 독성을 보이고 간접적으로는 전이금속들이 Ascorbate에 의한 염색체이상을 촉진시킨다(Stich등, 1979). 또한 크롬은 방사선에 의한 염색체절단의 수복을 억제시킨다고 알려져 있다(Morimoto와 Koizumi, 1981).

따라서, 이들 중금속에 대한 세포독성을 평가하는데 말초혈액 배양임파구는 비교적 수명이 길고 환경위험물질에 대한 유전적 손상이 누적되어 나타나기 때문에 발암원이나 clastogen에 급성 혹은 만성적, 반복적인 노출로 나타나는 효과를 감시하는데 큰 의의를 갖고 있으며(Leonard, 1986), 배양세포에 의한 염색체 이상은 염색체에서 일어나는 분명한 구조적 변화와 세포학적 조사방법이 비교적 용이하기 때문에 환경위험물질의 돌연변이원성

검사에 의의있는 기준이 되어왔다(Savage, 1975). 또한 Perry와 Wolff(1974)에 의해 개발된 FPG법에 의한 SCE검사는 발암원과 돌연변이원 검사에 염색체이상보다 더 민감한 방법으로 알려져 있으며(Perry와 Evans, 1975; Carrano등, 1978) 항암제, 화학물질등에 대한 발암원검사로 SCE가 활용되어 널리 사용될 전망이다(Latt, 1974; Perry와 Evans, 1975; Bauknecht등, 1977; 황 등, 1987).

최근 중금속의 세포독성평가를 위하여 SCE유발 검사가 널리 시도되고 있지만(Saxholm등, 1981; Stella등, 1982; Morimoto등, 1982; Waksvik와 Boysen, 1982; 三澤信一等, 1985; 황 등, 1986), Waksvik와 Boysen(1982)은 니켈정제소 근로자의 세포유전학적 검사에서는 염색체이상을 유발하나 SCE는 일으키지 않음을 보고하였고 Saxholm등(1981)은 Nickel sulfide가 SCE를 유발한다고 보고하여 중금속에 의한 SCE유발성에 관한 연구는 다소 미흡하며 아직도 논란이 되고 있다.

따라서 본 연구에서는 인혈배양임파구에 유해중금속인 니켈, 카드뮴, 크롬, 수은을 농도별로 첨가하여 SCE빈도와 염색체이상을 조사함으로써 중금속의 농도와 세포독성에 대한 정보를 얻고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 세포배양 및 중금속 처리

배양을 위한 혈액은 성인 남자의 전완정맥으로부터 heparin처리한 멸균주사기로 채혈하였다. 세포배양은 Latt(1973)와 황 등(1986)의 방법을 참조하여 다음과 같이 실시하였다.

배지는 RPMI 1640(GIBCO)에 25mM HEPES buffer(GIBCO), 15% fetal bovine serum(GIBCO), penicillin-streptomycin 100 unit-100 μ g/ml(GIBCO), 2% phytohemagglutinin-M(PHA-M, CIBCO)을 가하여 제조하였다.

세포배양은 상기 배지 5ml에 각각 0.2ml씩 혈액을 접종하고 암시야의 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 배양하였으며 대조염색을 위하여 배양후 24시간제 BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine, Sigma)를 가하였으며 동시에 공시한 중금속은 PBS(pH=7.2)에 10⁻⁴M부터 10⁻⁷M까지 10배 계열 희석하여 가하였으며, 수은 화합물은 높은 세포독성 때문에 10⁻⁵M부터 10⁻⁸M로 첨가 하였다(표 1).

공시한 중금속은 Nickel chloride(NiCl₂ · 6H₂O, Wako chemical, Japan), Nickel sulfate(NiSO₄ · 6H₂O, Wako

chemical, Japan), 원자흡광분석용(Junsei chemical) 크롬 표준용액($K_2Cr_2O_7$), 카드뮴 표준용액 ($CdCl_2$)과 수은 표준용액 ($HgCl_2$)이었다.

2. SCE염색 및 SCE와 염색체이상 관찰

세포를 수거하기 2-2.5시간 전에 colcemid(2×10^{-7} M) (GIBCO)를 가하고 배양 72시간째 원심분리하여 세포를 수거하였다. 수거한 세포를 0.075M KCl로 12분간 처리한 후 다시 원심분리하여 세포를 얻은 후 methanol과 acetic acid(3:1)용액에 20분씩 3회 고정하였다.

고정된 세포를 슬라이드 글라스에 떨어뜨려 자연건조시켰다.

염색은 Perry와 Wolff(1974)의 방법과 Goto등 (1978)의 방법을 약간 수정하여 다음과 같이 실시하였다.

건조된 슬라이드글라스를 Hoechst 33258($5\mu g/ml$) (Sigma)에 15분 염색한 후 탈이온수로 가볍게 세척하고 PBS(pH=7.0)에 mount하여 20W형광등 10cm거리에서 8시간 정치한 후 탈이온수에서 커버글라스를 제거하고 $60^\circ C$ 2 × SSC 용액에서 2시간 정치하였다. 다시 탈이온수로 가볍게 씻어 자연 건조하여 3% Giemsa용액에 30분간 염색하였다.

SCE계수는 각 농도마다 2차분열 증기세포를 1000배 시야에서 적어도 30개이상 연속적으로 조사하여 그 평균치를 SCE빈도로 나타냈다. 염색체이상은 염색체열극, 절단 및 기타(결실, Ring, Dicentric)를 각 농도마다 100-200개씩 연속적으로 조사하여 그 빈도를 %로 나타냈다.

SCE빈도의 통계처리는 t-검정을 실시하였다.

III. 성 적

1. 니켈, 크롬, 카드뮴, 수은에 의해 유발된

SCE빈도

혈액 배양임파구에서 중금속화합물의 농도변화에 따라 나타난 SCE빈도는 표1과 같다.

표1에서와 같이 대조군의 SCE빈도는 7.0 ± 2.5 이었으며 $CdCl_2$ 의 $1 \times 10^{-7}M$ 을 제외하고는 농도증가에 따라 매우 유의하게 증가되었다($p < 0.05$).

이때 공시한 각 화합물의 최고 SCE빈도는 $NiCl_2$ 는 $1 \times 10^{-4}M$ 의 11.9 ± 3.9 , $NiSO_4$ 는 $1 \times 10^{-4}M$ 의 11.6 ± 4.0 , $K_2Cr_2O_7$ 은 $1 \times 10^{-6}M$ 의 16.3 ± 4.1 , $CdCl_2$ 는 $1 \times 10^{-6}M$ 의 11.4 ± 5.5 및 $HgCl_2$ 의 $1 \times 10^{-6}M$ 에서 12.6 ± 5.5 로 나타났다.

따라서 공시한 중금속 화합물중 가장 강력한 SCE유발제는 $K_2Cr_2O_7$ 으로 나타났으며 기타 공시화합물은 다소 낮은 값을 보였다(Fig. 1). 또한 $K_2Cr_2O_7$ 및 $CdCl_2$ 의 $1 \times 10^{-4}M$ 에서는 강한 세포분열억제로 계수 가능한 2차분열 증기세포수가 비교적 적었다.

Table 1. Sister chromatid exchange frequencies in normal human cultured lymphocytes treated with heavy metals

Heavy metals	Concentrations of heavy metals(M)	Number of counted cells	SCEs / cell ^a
Control		40	7.0 ± 2.5
$NiCl_2$	1×10^{-7}	40	$8.1 \pm 3.1^*$
	1×10^{-6}	40	$9.6 \pm 3.2^{***}$
	1×10^{-5}	40	$9.6 \pm 2.9^{***}$
	1×10^{-4}	40	$11.9 \pm 3.9^{***}$
$NiSO_4$	1×10^{-7}	40	$8.6 \pm 3.7^{**}$
	1×10^{-6}	40	$8.7 \pm 2.9^{**}$
	1×10^{-5}	40	$9.3 \pm 3.4^{***}$
	1×10^{-4}	40	$11.6 \pm 4.0^{***}$
$K_2Cr_2O_7$	1×10^{-7}	40	$9.6 \pm 3.8^{***}$
	1×10^{-6}	40	$11.5 \pm 4.0^{***}$
	1×10^{-5}	40	$16.3 \pm 4.1^{***}$
	1×10^{-4}	20 ^b	$15.2 \pm 4.8^{***}$
$CdCl_2$	1×10^{-7}	40	7.5 ± 3.6
	1×10^{-6}	40	$11.4 \pm 5.5^{***}$
	1×10^{-5}	40	$11.2 \pm 4.1^{***}$
	1×10^{-4}	20 ^b	$9.2 \pm 4.6^{**}$
$HgCl_2$	1×10^{-8}	40	$8.4 \pm 3.6^*$
	1×10^{-7}	40	$9.9 \pm 4.1^{***}$
	1×10^{-6}	40	$12.5 \pm 4.9^{***}$
	1×10^{-5}	40	$12.6 \pm 5.5^{***}$

a : Mean ± S.D.

b : Only 20 cells were counted for SCEs because of low viabilities.

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

2. 니켈, 크롬, 카드뮴에 의해 유발된

염색체이상

중금속 화합물로 유발된 염색체이상빈도는 표2와 같다. 염색체이상 유형은 염색체 절단(절편포함), 염색체 열극, 결실 Dicentric 및 Ring염색체들이 관찰되었다. 이들 염색체이상을 갖는 세포의 전체빈도는 니켈과 크롬 화합물에서는 농도증가에 따라 증가되었으며 크롬의 경우 대조군의 2.0%에 비해 농도증가($10^{-7}M$ 에서 $10^{-4}M$)에 따라 각각 3.9, 6.1, 11.2 및 15.7%로 나타나 가장 높은 염색체이상 빈도를 보였다. 다음은 $NiSO_4$ 와 $NiCl_2$ 로서 서로

Table 2. Frequencies of chromosome aberration in cultured human lymphocytes treated with heavy metals

Heavy metals	Concentration (M)	Counted cells	Aberrant type					Total aberration/ counted cells(%)
			B	G	D	DC	R	
Control		200	1	3	0	0	0	2.0
NiCl ₂	1 × 10 ⁻⁷	200	3	8	0	0	0	5.0
	1 × 10 ⁻⁶	200	6	14	0	0	0	9.5
	1 × 10 ⁻⁵	200	2	24	0	0	0	11.5
	1 × 10 ⁻⁴	200	4	24	0	0	0	12.0
NiSO ₄	1 × 10 ⁻⁷	200	2	6	0	0	0	3.5
	1 × 10 ⁻⁶	200	4	10	0	0	0	7.0
	1 × 10 ⁻⁵	200	2	20	0	0	0	10.5
	1 × 10 ⁻⁴	200	8	16	0	0	0	11.5
K ₂ Cr ₂ O ₇	1 × 10 ⁻⁷	153	2	7	0	0	0	3.9
	1 × 10 ⁻⁶	231	5	8	0	1	0	6.1
	1 × 10 ⁻⁵	161	4	14	1	1	0	11.2
	1 × 10 ⁻⁴	172	7	17	2	4	0	15.7
CdCl ₂	1 × 10 ⁻⁷	181	0	0	0	2	2	2.2
	1 × 10 ⁻⁶	141	0	2	0	1	2	3.5
	1 × 10 ⁻⁵	275	4	9	2	2	0	6.2
	1 × 10 ⁻⁴	80	1	3	0	1	0	6.3
HgCl ₂	1 × 10 ⁻⁸	100	1	1	0	0	0	2.1
	1 × 10 ⁻⁷	165	0	3	1	1	0	3.0
	1 × 10 ⁻⁶	185	2	5	0	0	0	3.7
	1 × 10 ⁻⁵	172	0	6	0	0	0	3.4

B:Break, G:Gap, D:Deletion, R:Ring, DC:Dicentric

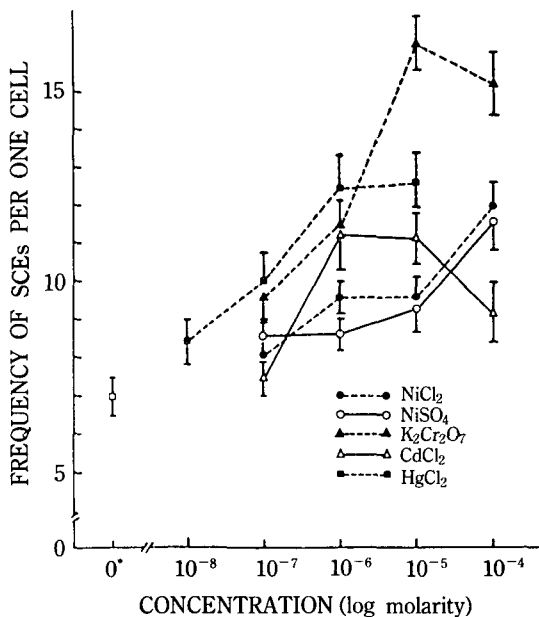


Fig. 1. The frequency of SCEs in human lymphocyte treated with heavy metals in vitro for 48hour (O* control).

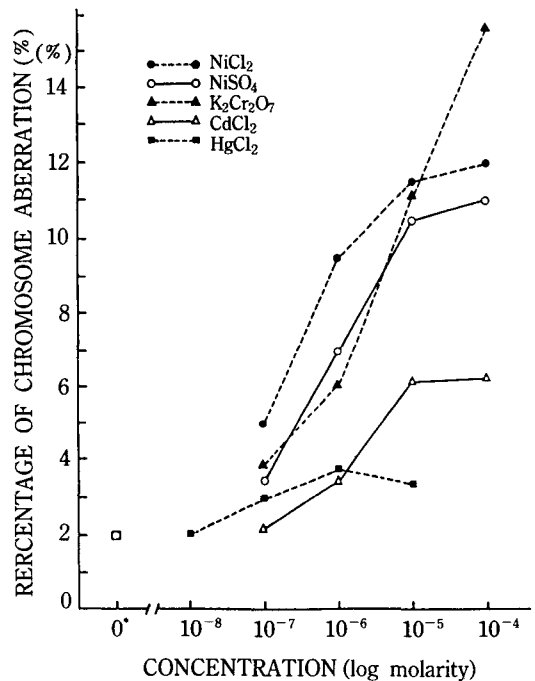


Fig. 2. Incidence of chromosome aberrations in human lymphocyte treated with heavy metals in vitro for 48hour (O* control).

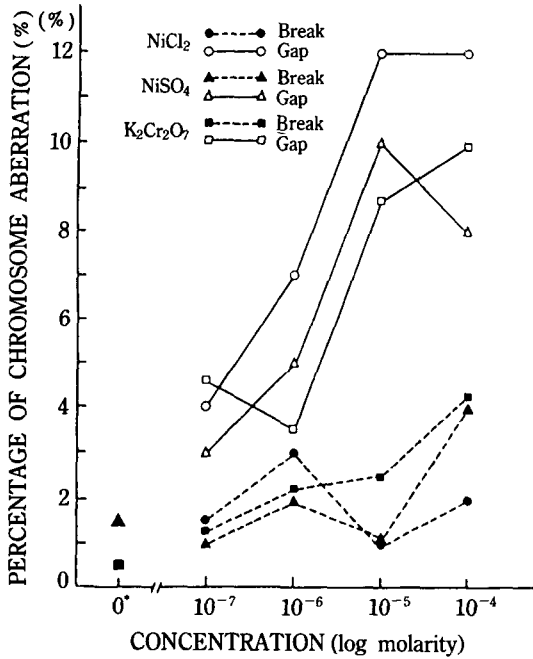


Fig. 3. A comparison of gap and break frequencies in normal human cultured lymphocytes treated with nickel and chrome compounds(* control).

비슷한 결과였으며 CdCl₂ 및 HgCl₂의 경우에는 염색체 이상 빈도의 유의한 변화가 없었다(Fig. 2).

염색체이상 유형별로는 니켈의 경우 염색체절단은 농도증가에 따라 빈도의 증가가 없었으나 염색체열극은 농도증가에 따라 용량대 반응으로 증가되었으며 크롬의 경우는 Break와 Gap이 농도증가에 따라 비슷한 빈도로 증가되었다(Fig. 3).

IV. 고 안

일부 유해중금속의 암유발성은 1930년대부터 알려져 역학조사 결과로 확인되었으며, 이들 암종은 비교적 수년간 노출된 누적결과로서 나타난다(IARC monograph, 1973; Stokinger, 1981). 일부 중금속 비소(As), 카드뮴(Cd), 크롬(Cr), 수은(Hg), 망간(Mn), 납(Pb), 안티몬(Sb), 셀레늄(Se), 아연(Zn), 니켈(Ni)등은 직업병의 원인물질로서 중독시 생리적, 기능적 장애를 초래하며 형태학적 생화학적 변화를 수반하기도 한다(W.H.O., 19

73; Stokinger, 1981; 三澤信一 등, 1985). 또한 카드뮴과 셀레늄 등은 실험동물에서 발생학적으로 기형을 유발하기도 하여 산업사회의 다변화와 근로여성의 급증은 이들 중금속중독에 의한 기형유발 가능성을 배제할 수 없다(Michel과 Niggli, 1986; Fox와 Jacobs, 1986).

따라서 이들 일부 유해중금속에 대한 세포독성을 알아보고자 장기적인 노출에 의한 누적된 유전적 손상을 잘 반영해주는 것으로 알려진 말초혈액임파구를 모델로(Leonard, 1986) 돌연변이성 검사에 유용한 염색체이상(Savage, 1975)과 염색체 이상보다 돌연변이원과 발암원검사에 민감한 지수로 알려진(Perry와 Evans, 1975) 자매염색분체교환(sister chromatid exchange, SCE) 현상으로 세포 독성 시험을 실시하였다.

본 검사결과 공시한 니켈, 크롬, 카드뮴, 수은중에서 크롬(K₂Cr₂O₇)이 가장 높은 빈도의 SCE와 염색체 절단과 열극의 이상을 유발하는 것으로 나타났으며 이 결과는 三澤信一 등(1985)의 SCE빈도와 Umeda와 Nishimura(1979)의 염색체이상 결과와 유사하였다.

한편 Leonard(1986)는 Cr(VI)은 clastogenic effect를 보인 반면 Cr(III)은 부의 결과를 보였고, Stella 등(1982)은 배양임파구의 세포유전학적 조사에서 크롬이 SCE와 염색체이상(열극과 절단)을 용량대 반응으로 유발하며 Cr(III)보다 Cr(VI)이 더 강한 SCE와 염색체이상을 유발한다고 하였다. 그 원인은 Cr(VI)이 Cr(III)보다 더 물에 잘 녹아 쉽게 흡수되고(Hammond와 Foulkes, 1986) rat의 in vivo실험에서의 같이(Tsapakos, 1981; Cupo와 Wetterhahn, 1985) 주입된 크롬이 rat의 간장, 신장, 폐 등의 세포내 핵에 모여 DNA와 chromatin과 결합함으로써 DNA strand break와 crosslink를 일으키기 때문인 것으로 사료된다. 또한 크롬은 X-선으로 유발된 염색체손상의 수복을 억제하며(Morimoto와 Koizumi, 1981) 세균의 돌연변이는 물론 *E. coli*에서 완전한 DNA의 합성을 방해하는 (Tkeshelashvili 등, 1980) 등 세포독성을 일으킨다.

니켈(NiCl₂와 NiSO₄)은 크롬보다는 낮지만 통계학적으로 유의한 SCE 및 염색체열극을 유발하였다. 그러나, 절대값이 낮아 다른 중금속에서의 결과와도 비슷한 양상이었다(Sen과 Costa, 1985; 황 등, 1986).

염색체이상은 Waksvik과 Boysen(1982)의 니켈제련소 근로자의 임파구와 Sen과 Costa(1985)의 chinese hamster cell에서 그리고 Nishimura와 Umeda(1979)는 C3H

mouse 유방암세포에서 농도증가에 따라 열극이 증가함을 보여 본 결과와 유사하였다.

따라서 Kazantzis와 Lilly(1979)의 세균을 이용한 돌연변이 검사에서 부의 결과를 나타낸 것은 *Salmonella* 균 배양 최소배지에 포함된 다량의 마그네슘과 인산염들이 공시한 니켈 등과 결합하여 복합체를 형성함으로써 니켈을 불활성화 시키기 때문인 것으로 사료된다(McCann, 1975).

세포내수준에서의 독성도 Ni_3S_2 가 NiS보다 더 독성을 보이며 니켈흡수와 각각의 암활성사이에 높은 상관성이 있으며 다른 금속들에 의한 암활성도 중금속의 세포내 흡수와 비례하는 것으로 알려져 있다(Costa와 Mollehnauer, 1980).

세포내 탐식된 니켈화합물들은 세포질내에서 핵내로 들어가 핵내거대분자와 상호작용할 수 있는 형태로 용해되며(Costa 등, 1981) 산소분자 존재하에서 알부민과 아미노산 등에 의해 촉진된다(Kasprzak와 Sunderman, 1977). Nickel carbonate를 복강내 주사한 in vivo 실험에서도 니켈화합물이 신장내 세포거대분자와 상호작용하여 크롬화합물에서처럼(Tsapkos 등, 1981) DNA single strand break와 DNA-protein crosslink에 직접 관여하여 염색체의 반복적인 DNA구조를 갖는 heterochromatin 부위에 염색체 손상을 가함으로써(Sen과 Costa, 1985) 니켈화합물이 염색체이상을 일으키는 것으로 사료된다.

카드뮴($CdCl_2$)에 의한 염색체이상은 Umeda와 Nishimura(1979) 및 Leonard(1986)는 부의 결과를 보고하여 본 결과와 유사하였다. 또한 자매염색분체교환도 유의한 SCE 증가를 보였으며 三澤信一 등(1986)의 결과보다는 다소 높았다. 한편, 小泉明 등(1974)은 $1 \times 10^{-6}M$ 에서 15.2%의 높은 빈도의 염색체이상, 그 중에서도 염색체열극이 가장 높은 빈도로 출현함을 보고하였으며, 이러한 염색체이상은 암발생과 유해한 형질의 유전과도 관련이 있다(Hallenbeck, 1984). 생체에서는 카드뮴이 metallothionein(MT)의 합성을 유도하여 세포내 MT와 결합함으로써 체내 카드뮴을 제거하는 EDTA와 같은 chelating 화합물의 효과를 방해하여 간장에서 신장으로 카드뮴을 CdMT형으로 운반하여 신독성을 일으키는 등 세포유전학적 독성을 배제할 수 없다.

수은($HgCl_2$)에 의한 SCE 빈도는 유의하게 증가되어 三澤信一 등(1985)과 황 등(1986)의 결과와는 유사하였

으나 Morimoto 등(1982)의 결과보다는 다소 낮은 값이었다. 염색체이상도 Umeda와 Nishimura(1979)의 결과처럼 유발되지 않았다. 그러나 Skerfving 등(1970)과 Popescu 등(1979)은 유기수은에 의한 염색체이상을 보고하였고 무기수은보다는 유기수은이 더 강한 세포독성 때문에 배양세포의 세포분열을 강하게 억제한다(Morimoto 등, 1982; 황 등, 1986). 이러한 유기수은과 무기수은에 의한 차이는 유기수은이 보다 높은 지질용해성과 생체막 투과성을 가지며 methyl mercury form이 생체 내에서 더 긴 반감기를 갖기 때문에 세포독성이 강하게 나타나는 것으로 사료된다(Hammond와 Beliles, 1980; Mailman, 1980; Stokinger, 1981; Hammond와 Foulkes, 1986).

三澤信一 등(1985)은 중금속의 위험정도를 SCE 유발 정도에 따라 4개군으로 나누어 대조군에 대한 SCE 유발비가 2.7 이상군을 위험도 1, 1.4-2.7을 위험도 2, 유의성은 있지만 SCE 빈도가 10 이하인 군을 위험도 3, 유의성이 없는 군을 위험도 4로 분류하였던 바 크롬과 비소만이 위험도 2에 속하며 대부분이 3과 4에 해당한다고 하였다.

따라서 본 조사결과를 三澤信一 등(1985)의 기준에 따라 분류하면 크롬과 기타 중금속의 고농도에서는 위험도 2에 속하고 나머지는 대부분 위험도 3에 속하여 중금속에 의한 SCE는 다른 발암원과 돌연변이원으로 알려진 화학물질 보다는 비교적 낮음을 보여주고 있다(황 등, 1986). 그러나 염색체이상은 크롬 및 니켈에서는 잘 나타났으나 수은과 카드뮴에서는 비교적 낮았다.

그러나 중금속에 의한 세포독성은 원자가, 용해도, 투여경로 등에 따라서도 그 영향이 달라지므로 추후 다각적인 측면에서 연구가 요망된다.

V. 요약

일부 중금속에 의한 배양세포에서 세포유전학적 독성을 알아보고자 $NiCl_2$, $K_2Cr_2O_7$, $CdCl_2$ 및 $HgCl_2$ 에 의한 SCE 빈도 및 염색체이상을 조사한 결과는 다음과 같다.

SCE 빈도는 공시한 중금속 모두에서 농도증가에 따라 대조군의 7.20 ± 2.5 에 비해 유의하게 증가되었으며($p < 0.05$), 각 중금속의 최고 SCE 빈도는 $NiCl_2$ 의 경우 $1 \times 10^{-4}M$ 에서 11.6 ± 4.0 , $K_2Cr_2O_7$ 의 경우 $1 \times 10^{-6}M$ 에서 16.3 ± 4.1 , $CdCl_2$ 의 경우 $1 \times 10^{-6}M$ 에서 11.4 ± 5.5 및 $HgCl_2$ 의 경우 $1 \times 10^{-5}M$ 에서 12.6 ± 5.5 로 나타났다.

또한 공시한 농도에서 가장 높은 SCE유발 증감속은 6가 크롬이었으며 니켈, 카드뮴, 수은은 비교적 낮은 SCE빈도를 보였다.

염색체이상은 gap, break, 기타의 순으로 그 빈도가 감소하였으며 염색체이상을 갖는 세포의 전체빈도는 니켈과 크롬화합물에서는 농도증가에 따라 증가되었고 크롬의 경우 대조군의 2.0%에 비해 $1 \times 10^{-4}M$ 에서는 15.7%로 가장 높은 염색체이상 빈도를 보였다.

염색체이상 유형별로는 니켈의 경우 염색체 gap은 농도증가에 따라 용량대 반응으로 증가한 반면 break는 유의한 변화가 없었으며 크롬의 경우는 gap과 break가 비슷한 양상으로 증가되었다. 그러나 수은과 카드뮴의 경우에는 염색체이상이 거의 유발되지 않았다.

참 고 문 헌

- 小泉明, 土橋ゆい子, 橋定功, 津田 佳世子, 森本兼彙, 化學物質による 深色體異常について. 東京醫學 1974; 82(3): 232-244
- 三澤信一, 小川博正, 阿陪達生. 各種金屬化合物と SCE. 小泉明, 森本兼彙 編. SCE. 姉妹深色分體交換と 環境科學. サイエンスフォーラム, 東京. 1985. pp. 363-374
- 昇正子. 크미량원소의 영양. 서울, 民音社, 1984, 쪽 403
- 이재형, 손위익, 황인담. 일부 공단주변 국민학생의 뇨중 중금속함량에 관한 연구. 전북의대 논문집 1987; 11(3): 207-214
- 황인담, 기노석, 이재형, 박인서. 일부 중소도시 기혼여성의 혈액 및 뇨중 중금속 함량의 상관성에 관한 연구. 예방의학회지 1987; 20(1): 49-55
- 황인담, 박영수, 김유태, 고대하, 이정상. 중금속이 배양세포의 자매염색분체 교환에 미치는 영향. 전북의대논문집 1986; 10(1): 1-9
- Bauknecht T, Vogel W, Bayer U, Wild D. Comparative in vivo mutagenicity testing by SCE and micronucleus induction in mouse bone marrow. Genet 1977; 35: 299-307
- Carrano AV, Thompson LH, Lindl PA, Minkle JL. Sister chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. Nature 1978; 271: 551-553
- Ciccarelli RB, Hampton TH, Jannette KW. Nickel carbonate induces DNA-protein cross-links and DNA strand breaks in rat kidney. Cancer Lett 1981; 12: 349-354
- Ciccarelli RB, Wetterhahn KE. Nickel bound chromatin, nucleic acids, and nuclear proteins from kidney and liver of rats treated with nickel carbonate in vivo. Cancer Res 1984; 44: 3892-3897
- Costa M, Hansen JS, Bedrossian CWM, Bonura J, Caprioli RM. Phagocytosis, cellular distribution, and carcinogenic activity of particulate nickel compounds in tissue culture. Cancer Res 1981; 41: 2868-2876
- Costa M, Mollenhauer HH. Carcinogenic activity of particulate nickel compounds is proportional to their cellular uptake. Science 1980; 209: 515-517
- Costa M, Mollenhauer HH. Phagocytosis of nickel subsulfide particles during the early stages of neoplastic transformation in tissue culture. Cancer Res 1980; 40: 2688-2694
- Cupo DY, Wetterhahn KE. Binding of chromium to chromatin and DNA from liver and kidney of rats treated with sodium dichromate and chromium(III) chloride in vivo. Cancer Res 1985; 45: 1146-1151
- Farrelly RO, Pybus J. Measurement of lead in blood and urine by atomic absorption spectrophotometer. Clin Chem 1969; 15: 556-570
- Fox MRS, Jacobs RM. Human nutrition and metal ion toxicity In: Sigel H(ed.), Metal ions in biological systems. Vol. 20: New York, Marcel Dekker, Inc., 1986, pp. 201-228
- Fuwa. Determination of zinc in biological materials by AAS. Anal Chem 1964; 36: 2407-2411
- Gilman JPM. Metal carcinogenesis. 11. A study on the carcinogenic activity of cobalt, copper, iron, and nickel compounds. Cancer Res 1962; 22: 158-162
- Goto K, Maeda S, Kano Y, Sugiyama T. Factors involved in differential Giemsa staining of sister chromatids. Chromosoma 1978; 66: 351-359
- Hallenbeck WH. Human health effects of exposure to cadmium. Experientia 1984; 40: 136-142
- Hammond PB, Beliles RP. Metals. In: Doull J, Klaassen CD, Amdur MO(eds.), Casarett and Doull's Toxicology. 2nd Ed., New York, Macmillan Publishing Co., Inc., 1980, pp. 421-435
- Hammond PB, Foulkes EC. Metal ion toxicity in man and animals. In: Sigel H(ed.), Metal ions in biological systems. Vol. 20: New York, Marcel Dekker, Inc., pp. 157-200
- Hueper WC. Experimental studies in metal cancerigenesis; VII. Tissue reactions to parenterally introduced powdered metallic chromium and chromite ore. J Natl Cancer Inst 1955; 16: 447-469
- IARC. Nickel and inorganic nickel compounds. In: IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man, Vol. 2, Lyon, IARC, 1973, pp. 126-149
- Imbus HR, Cholok J, Sterling T. Boron, cadmium, chromium and nickel in blood and urine. Arch Environ Health 1963; 6: 112-116
- Kasprzak KS, Sunderman FWJr. Mechanisms of dissolution

- of nickel subsulfide in rat serum. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1977; 16: 95-108
- Kazantzis G, Lilly L. Mutagenic and carcinogenic effects of metals. In: Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB (Eds). *Handbook on the toxicology of metals*, Elsevier, Amsterdam, 1979, pp. 237-272
- Latt SA. Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70: 3395-3399
- Latt SA. Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: Detection by fluorescence and induction by mitomycin C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974; 71: 3162-3166
- Lee JE, Ciccarelli RB, Jennette KW. Solubilization of the carcinogen nickel subsulfide and its interaction with deoxyribonucleic acid and protein. *Biochemistry* 1982; 21: 771-778
- Leonard A. Chromosome damage in individuals exposed to heavy metals. In: Sigel H (ed.), *Metal ions in biological systems*. Vol. 20, New York, Marcel Dekker, Inc., 1986, pp. 229-258
- Mailman RB. Heavy metal. In: Guthrie FE and Perry JI (eds.), *Introduction to environmental toxicology*. New York, Elsevier, 1980, pp. 34-43
- Mary M. Determination of copper and zinc in biological materials. *Clin Chem* 1967; 13: 1-6
- McCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames BN. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72(12): 5135-5139
- Michel C, Niggli HF. Teratogenic interactions between cadmium and radiation in mice. *Experientia* 1986; 42: 80-81
- Miyaki M, Akamatsu N, Ono T, Koyama H. Mutagenicity of metal cations in cultured cells from chinese hamster. *Mutat Res* 1979; 68: 259-263
- Morimoto K, Iijima S, Koizumi A. Selenite prevents the induction of sister-chromatid exchanges by methyl mercury and mercuric chloride in human whole blood cultures. *Mutat Res* 1982; 102: 183-192
- Morimoto K, Koizumi A. Inhibition of repair of radiation induced chromosome breaks; Effects of chromium trioxide on cultured human lymphocytes. *Industrial Health* 1981; 19: 259-262
- Nishimura M, Umeda M. Induction of chromosomal aberrations in cultured mammalian cells by nickel compounds. *Mutat Res* 1979; 68: 337-349
- Nishioka H. Mutagenesis of metal compounds in bacteria. *Japanese Environ Mutagen Society* 1975; 437-438
- Paton GR, Allison AC. Chromosome damage in human cell cultures induced by metal salts. *Mutat Res* 1972; 16: 332-336
- Perry P, Evans HJ. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* 1975; 258: 121-125
- Perry P, Wolff S. New Giemsa method for differential staining of sister chromatids. *Nature* 1974; 251: 156-158
- Popescu HI, Negru L, Lancranjan I. Chromosome aberrations induced by occupational exposure to mercury. *Arch Environ Health* 1979; 34: 461
- Ratcliffe. *Lead in man and the environment*. New York, Ellis Horwood Ltd., 1981, pp. 34-40
- Savage JRK. Chromosomal aberrations as tests for mutagenicity. *Nature* 1975; 258: 103-104
- Saxholm HJK, Reith A, Brogger A. Oncogenic transformation and cell lysis in C₃H/10T 1/2 cells and increased sister chromatid exchange in human lymphocytes by nickel subsulfide. *Cancer Res* 1981; 41: 4136-4139
- Schrauzer GN. *Inorganic and Nutritional aspects of cancer*. New York, Plenum Press, 1978, p. 323
- Sen P, Costa M. Induction of chromosomal damage in chinese hamster ovary cells by soluble and particulate nickel compounds-Preferential fragmentation of the heterochromatic long arm of the X-chromosome by carcinogenic crystalline NiS particles. *Cancer Res* 1985; 45: 2320-2325
- Skerfving S, Hansson K, Lindsten J. Chromosome breakage in humans exposed to methylmercury through fish consumption. *Arch Environ Health* 1970; 21: 133
- Stella M, Montaldi A, Rossi R, Levis AG. Clastogenic effects of chromium on human lymphocytes in vitro and in vivo. *Mutat Res* 1982; 101: 151-164
- Stich HF, Wei L, Whiting RE. Enhancement of the chromosome damaging action of ascorbate by transition metals. *Cancer Res* 1979; 39: 4145-4151
- Stokinger HE. *The metals*. In: Clayton GD, Clayton FE (eds.), *Patty's industrial hygiene and toxicology*. Vol. IIA, 3rd revised Ed., New York, John Wiley & Sons Inc., 1981, pp. 1493-2060
- Tkeshelashvili LK, Shearman CW, Zakour RA, Koplitz RM, Loeb LA. Effects of arsenic, selenium, and chromium on the fidelity of DNA synthesis. *Cancer Res* 1980; 40: 2455-2460
- Tsapakos MJ, Hampton TH, Jennette KW. The carcinogen Tokuomi H, Okajima T, Kanai J, Takaba M. Minamata disease. *World Neurology* 1965; 65: 536
- Tsapakos MJ, Hampton TH, Jennette KW. The carcinogen

- chromate induces DNA cross-links in rat liver and kidney. J Biol Chem 1981; 256(8): 3623-3626*
- Umeda M, Nishimura M. *Inducibility of chromosomal aberrations by metal compounds in cultured mammalian cells. Mutat Res 1979; 67: 221-229*
- Waksvik H, Boysen M. *Cytogenetic analysis of lymphocytes from workers in a nickel refinery. Mutat Res 1982; 103: 185-1*
- WHO. *Health hazards of the human environment. Geneva, WHO, 1973*