

## Selenium이 mercury, cadmium 및 chromium에 의한 姉妹染色分體交換의 頻度에 미치는 影響\*

전북대학교 의과대학 예방의학교실  
고 대 하 · 기 노 석

= Abstract =

### Selenium Effect on the Frequency of SCEs Induced by Heavy Metals in Human Lymphocytes

Dai Ha Koh, No Suk Ki

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

The protective effect of sodium selenite ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) against the cytogenetic toxicity of heavy metals was investigated on human whole-blood cultures in relation to induction of sister chromatid exchange (SCE) in secondary metaphase chromosome.

Methylmercury chloride ( $\text{CH}_3\text{HgCl}$ ), cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2$ ), potassium dichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), and sodium selenite caused to the typically dose-dependent increase in sister chromatid exchanges (SCEs) by the concentrations ranging from  $0.3 \mu\text{M}$  to  $10 \mu\text{M}$ .

However, the inductions of sister chromatid exchanges by methylmercury chloride or cadmium chloride were inhibited by the simultaneous addition of sodium selenite  $1.2 \mu\text{M}$ . The frequencies of SCE were decreased to the level of control in the molar ratios as 2 : 1, 1 : 1, 1 : 2, and 1 : 4 of selenium selenite vs. methylmercury chloride, and as 1 : 1 and 1 : 2 of selenium selenite vs. cadmium chloride, while the frequencies of SCE induced by potassium dichromate were not changed by the addition of sodium selenite in culture condition.

Mitotic indices were decreased in the higher concentrations of chemicals and not significantly changed by the simultaneous addition of sodium selenite to the culture condition containing each chemicals.

**Key Word:** selenium, sister chromatid exchange, heavy metals.

### I. 서 론

셀레늄은 지각내에 비교적 소량으로 존재하는 비금속

원소인데, 유리나 도자기의 착색제 또는 반도체산업의 기본 소재로서 중요한 용도가 있으며(Smith, 1988), 최근에는 그 생물학적 역할에도 많은 관심을 불러 일으키고 있다.

\* 본 논문은 1989년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

일찌기 Schwarz와 Foltz(1957)가 실험동물에서 셀레늄의 필수성을 지적한 이래, Schroeder 등(1970)과 Young(1981)들도 인체에서 셀레늄이 필수미량원소로 작용한다는 사실을 밝힌 바 있다.

인체에서 셀레늄 부족은 심장질환(Salonen 등, 1982), 낭포성 섬유증(Lloyd-Still 등, 1980; Castillo 등, 1981), 다발성 경화증(Jansson, 1980) 등과 같은 특정질환의 발생에 밀접한 관련이 있으며, 대조군에 비해 혈중 셀레늄이 저농도인 경우 각종 암질환의 위험인자와 상승작용을 하거나 직접적인 위험인자가 될 수 있음을 시사해주는 역학조사결과들(Shamberger 등, 1976; Broghamer 등, 1976, 1978; Goodwin 등, 1983; Willett 등, 1983; Salonen 등, 1984, 1985; Schober 등 1987)이 있다.

동물실험에서 셀레늄의 발암작용이 보고된 예(Nelson 등, 1943)도 있으나, 셀레늄과 발암물질을 동시에 투여한 조건에서는 발암억제효과를 보여주는 실험결과들(Ip와 Sinha, 1981; Thompson 등, 1981, 1982; Horvath와 Ip, 1983)이 주목되고 있으며, 기존 발암성물질에 대한 변이원성 검사(Ames test)에서도 셀레늄의 억제효과가 관찰되어(Jacob 등, 1977, Shamberger 등, 1978), 앞서 기술한 역학조사의 결과를 뒷받침하고 있다.

한편 발암 및 변이원성물질에 의한 세포독성을 예민하게 반영하는 것으로 알려진(Perry와 Evans, 1975; Carrano 등, 1978; Bradley 등, 1979) 자매염색체교환(sister chromatid exchange; SCE) 검사에서 셀레늄을 단독으로 첨가한 경우에는 수은 등의 유해중금속들과 마찬가지로 농도에 비례하여 SCE빈도가 증가된다(Ray와 Altenburg, 1978, 1980). 그러나 셀레늄을 수은과 동시에 첨가한 배양에서 셀레늄과 수은의 몰(mol)농도비가 1:1 또는 1:2인 조건일 때, SCE빈도가 현저히 감소됨으로서(Morimoto 등, 1982), Parijek와 Ostadalova(1967), Ganther(1972) 및 Sumino 등(1977)들이 보고한 바와 같이 실험동물에서 수은중독을 셀레늄이 완화시킨다는 사실과 서로 부합된다.

이상에서 기술한 셀레늄의 특이한 역할을 설명할 수 있는 작용기전은 현재까지 논란의 여지가 있으나, 항암 기능은 셀레늄의 항산화작용(antioxidant activity)에 의하며(Shamberger, 1970, Riley, 1966), 항산화작용은 셀레늄의존성효소인 glutathione peroxidase의 활성을 통해 발휘된다는 주장(Ganther, 1971; Rotruck 등, 1973; Potter와 Matrone, 1974; Oh 등, 1974; Awasthi 등, 1975; Hoekstra,

1975)이 관심을 끌고 있고, 수은독성에 대한 억제효과는 셀레늄이 수은과 결합하여 독성이 적은 화합물을 형성하므로서 가능하다는 것이 Sumino 등(1977) 및 Morimoto 등(1982)의 견해이다.

저자는 수은과 여러 중금속들이 농도에 비례하여 SCE 빈도를 증가시킴을 이미 관찰한 바 있으며(고대하, 1984; 황인담 등, 1986), 이들 중금속이 SCE빈도 변화를 유도하는 작용기전은 거의 동일할 것이라 생각된다. 따라서 셀레늄이 수은에 의한 SCE빈도 증가를 억제시킨다는 Morimoto 등(1982)의 관찰이 카드뮴이나 크롬과 같은 다른 유해중금속들에게도 일반화될 수 있는 공통된 현상인지, 아니면 셀레늄과 수은만의 독특한 작용으로 국한된 것인지를 밝히므로써 셀레늄을 비롯한 여러 중금속들의 세포독성에 대한 정보를 얻고자 본 연구를 시도한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 세포배양 및 중금속 처리

배양에 필요한 혈액은 건강한 성인남자의 전완정맥으로부터 heparin을 가하여 채혈하였다.

세포배양은 Latt(1973)의 방법에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 배지는 RPMI-1640(GIBCO)에 15% fetal bovine serum(GIBCO), 25 mM HEPES buffer(GIBCO), phytohemagglutinin-M(PHAM, GIBCO), 및 penicillin-streptomycin 100 µg/ml(GIBCO)를 첨가하여 제조하였고, 배지 5 ml에 각각 0.2 ml의 혈액을 접종하여 암시아의 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 72시간 배양하였다.

대조염색을 위한 BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine, Sigma)는 배양시작 24시간 후에 가하였고, 이때 각 중금속들은 1×10<sup>-6</sup> M부터 3×10<sup>-7</sup> M까지 6개 농도가 되도록 인산 완충용액(pH=7.2)에 2배 계열 희석하였으며, 각 농도별 SCE빈도에 대해 셀레늄의 영향을 관찰하기 위해 1.2×10<sup>-6</sup> M의 셀레늄을 동시에 첨가하였다.

공시한 중금속들은 methylmercury chloride(CH<sub>3</sub>HgCl, Kanto chemical Co., Japan)와 원자흡광분석용 카드뮴 표준용액(CdCl<sub>2</sub>, Junsei chemical Co., Japan), 크롬표준용액(K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, Junsei chemical Co., Japan)이며, 셀레늄은 sodium selenite(Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, Fluka AG, Swiss)를 사용하였다.

## 2. 염색 및 관찰

배양한 세포는 고정 3시간전에 colcemid( $2 \times 10^{-7}$  M, GIBCO)를 가하여 그 이상의 세포분열을 중지시켰으며, 이를 원심분리하여 상청액을 제거하고 0.075 M KCl 용액에 12분간 정치한 뒤, methanol과 acetic acid의 3:1 용액에 20분씩 3회 고정하였다.

고정된 세포들을 microslide상에 점적하고 공기중에 건조시켜, Perry와 Wolff(1974) 및 Goto 등(1978)의 방법을 참조하여 다음과 같이 염색하였다. 먼저 Hoechst 33258 ( $5 \mu\text{g/ml}$ , Sigma)에 15분간 염색하여 탈이온수로 가볍게 세척한 뒤, 인산완충용액(pH=7.0)에 mount하여 20w 형광등 아래 10 cm의 거리를 두고 40~50분간 정치한다. 8시간 후 다시 탈이온수에서 coverglass를 제거하고 60°C의  $2 \times \text{SSC}$  (0.3 M sodium chloride-0.03 M sodium citrate) 용액에서 1시간 정치하였다. 이를 다시 탈이온수로 가볍게 씻어 자연건조하여 3% Giemsa 용액에 30분간 염색하였다.

SCE계수는 각 농도별로 2차 분열중기세포를 1,000배 시야에서 적어도 30개 이상 연속적으로 조사하여, 그 평균치를 SCE빈도로 나타냈으며, 세포분열지수(mitotic index)는 100배 시야에서 1,000개 이상의 세포를 계수하고 이중 분열중인 세포수를 백분율로 표시하였다. 각 군간의 SCE빈도에 대한 통계처리는 t-검정을 하였다.

## III. 성 적

### 1. 셀레늄에 의한 SCE빈도

셀레늄이 첨가되지 않은 대조군의 경우는 SCE빈도는  $5.9 \pm 2.64$ 회였으며,  $0.3 \mu\text{M}$ 부터  $5 \mu\text{M}$ 까지 셀레늄 농도 증가에 비례하여 SCE빈도가 증가함이 관찰되었다. 특히  $1.2 \mu\text{M}$  이상의 농도에서 대조군에 비해 SCE빈도가 현저히 증가하였으며( $P < 0.01$ ), 최고 농도인  $10 \mu\text{M}$ 의 조건에서는 개개의 염색체들이 서로 뭉쳐 있고 염색상도 흐려 SCE의 계수가 불가능하였다(표 1).

세포분열지수(mitotic index)는 셀레늄의 농도에 반비례하여, 대조군에서는 4.0%로 비교적 활발한 세포분열을 보이고 있으나 농도증가에 따라 점차 낮아져  $10 \mu\text{M}$ 에서는 불과 0.1%로 분열중인 세포를 거의 찾아볼 수 없었다.

**Table 1.** The Frequency of SCEs in Lymphocytes Treated for 48hr With Various Concentrations of Sodium Selenite.

Concentration(M)	SCEs per cell	Mitotic index(%)
Control	$5.9 \pm 2.64^a$	4.0
$3 \times 10^{-7}$	$6.4 \pm 2.86$	3.8
$6 \times 10^{-7}$	$7.5 \pm 3.30^*$	3.1
$1.2 \times 10^{-6}$	$8.6 \pm 2.76^{***}$	2.8
$2.5 \times 10^{-6}$	$10.1 \pm 4.50^{***}$	1.2
$5 \times 10^{-6}$	$12.3 \pm 3.99^{***}$	0.9
$1 \times 10^{-5}$	few mitoses	0.1

<sup>a</sup> Mean  $\pm$  SD.

<sup>b</sup> SCEs cannot be scored because only first-division metaphase cells were found.

\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.005$ .

### 2. 수은, 카드뮴 및 크롬에 의한 SCE빈도

수은을 비롯하여 카드뮴, 크롬의 경우도 셀레늄과 마찬가지로 농도증가에 비례하여 SCE빈도가 상승하였는데 전반적으로 이들 중금속에 의한 SCE빈도의 변화폭은 최저농도  $0.3 \mu\text{M}$ 에서 최고농도  $10 \mu\text{M}$ 까지 6회에서 15회의 범위로 상호간에 큰 차가 없다( $P > 0.05$ ).

대조군과 비교할 때 SCE빈도의 현저한 증가( $P < 0.01$ )를 나타내는 농도는 수은의 경우  $0.6 \mu\text{M}$ , 크롬은  $1.2 \mu\text{M}$ , 카드뮴은  $2.5 \mu\text{M}$ 로써 서로 달랐으며, 가장 높은 SCE빈도를 나타낸 농도는 수은의 경우  $5 \mu\text{M}$ 에서  $15.7 \pm 2.74$ 회, 크롬은  $10 \mu\text{M}$ 에서  $14.9 \pm 6.43$ 회, 카드뮴은  $5 \mu\text{M}$ 에서  $11.4 \pm 5.56$ 회였다.

세포분열지수도 셀레늄의 경우에서와 같이 첨가농도에 반비례하는 경향으로 고농도일수록 낮아졌으며, 크롬의 경우 최고농도인  $10 \mu\text{M}$ 에서도 1.6%로서 수은이나 카드뮴의 경우보다 상대적으로 높았다(표 2, 3, 4).

### 3. 셀레늄과 중금속을 동시에 첨가했을 때의 SCE빈도

중금속들간의 각 농도에 셀레늄  $1.2 \mu\text{M}$ 을 균등하게 동시에 첨가한 경우, SCE빈도가 셀레늄이 첨가되지 않은 조건과는 상이한 변화를 보였다.

수은의 경우 셀레늄이 첨가되지 않은 조건에서는 비교적 낮은 농도인  $0.6 \mu\text{M}$ 에서 SCE빈도의 현저한 상승

**Table 2.** The Frequency of SCEs in Lymphocytes Treated for 48 hr With Various Concentrations of Methylmercury and 1.2  $\mu$ M of Sodium Selenite.

Treatment	Concentration of methylmercury(M)	Molar ratio <sup>a</sup>	SCEs per cell	Mitotic index(%)
A	Control		6.5 $\pm$ 2.70 <sup>a</sup>	3.3
	3 $\times$ 10 <sup>-7</sup>		6.9 $\pm$ 3.01	3.2
	6 $\times$ 10 <sup>-7</sup>		9.8 $\pm$ 2.87***	3.5
	1.2 $\times$ 10 <sup>-6</sup>		12.2 $\pm$ 2.42***	2.8
	2.5 $\times$ 10 <sup>-6</sup>		14.5 $\pm$ 2.56***	1.1
	5 $\times$ 10 <sup>-6</sup>		15.7 $\pm$ 2.74***	0.4
	1 $\times$ 10 <sup>-5</sup>		few mitoses <sup>b</sup>	0.0
B	Control		6.8 $\pm$ 2.37	3.4
	3 $\times$ 10 <sup>-7</sup>	4 : 1	7.2 $\pm$ 2.97	3.2
	6 $\times$ 10 <sup>-7</sup>	2 : 1	7.9 $\pm$ 3.11	4.0
	1.2 $\times$ 10 <sup>-6</sup>	1 : 1	7.4 $\pm$ 3.39	2.6
	2.5 $\times$ 10 <sup>-6</sup>	1 : 2	6.4 $\pm$ 2.25	.6
	5 $\times$ 10 <sup>-6</sup>	1 : 4	8.4 $\pm$ 3.44*	0.5
	1 $\times$ 10 <sup>-5</sup>	1 : 8	few mitoses <sup>b</sup>	0.1

<sup>a</sup> Molar ratio of selenium vs. mercury.

<sup>b</sup> SCEs cannot be scored because only first-division metaphase cells were found.

A Selenium free.

B Combine with 1.2  $\mu$ M of sodium selenite.

\* p<0.05, \*\*\* p<0.005.

이 있었으나, 셀레늄 동시첨가시 2.5  $\mu$ M 이하의 농도에서는 대조군에 비해 SCE빈도가 별다른 변화가 없고(P>0.05), 5  $\mu$ M의 농도에서도 SCE빈도가 8.4 $\pm$ 3.44회로써 대조군보다는 높지만(P<0.05), 수은단독 첨가시의 5  $\mu$ M 농도에서의 15.7 $\pm$ 2.74회에 비해 현저하게 낮았으며(P<0.01), 셀레늄과 수은의 몰(mol) 농도비로 본다면 2:1, 1:1, 1:2 및 1:4의 조건에서 공히 SCE빈도의 감소가 나타났다(그림 1).

카드뮴의 경우도 단독 첨가시에 비해 셀레늄을 동시에 첨가한 경우 수은의 경우와 유사한 양상으로, 몰(mol) 농도비 1:2 및 1:4의 조건인 2.5  $\mu$ M과 5  $\mu$ M에서 SCE 빈도의 감소가 나타났으며(P<0.05), 기타 농도에서는 대조군과 별다른 차이가 없었다(P>0.05, 그림 2).

한편 크롬의 경우에는 수은이나 카드뮴과는 달리 셀레늄 동시첨가에도 SCE빈도변화에 별다른 영향을 나타내지 않았다(P>0.05, 그림 3).

세포분열지수는 수은과 카드뮴의 경우 셀레늄 첨가에 의해 변화가 없었으나 크롬의 경우 비교적 고농도인 5

$\mu$ M과 10  $\mu$ M에서 단독 첨가시보다 약간 상승하였다.

#### IV. 고 안

셀레늄은 자연계 또는 생체내에서 selenate(+6가), selenite(+4가), selenide(-2가) 및 elemental selenium(0가) 등 4가지의 형태로 존재한다.

셀레늄의 독성 또는 유용성은 화합물의 종류에 따라 다르며(Goyer, 1986), 실제 Ray와 Altenburg(1980)는 같은 셀레늄 화합물이라 해도 원자가에 따라 SCE발현 빈도에 큰 차가 있음을 보고한 바 있는데, 이는 각 화합물의 생체막투과성 및 세포대사과정과 관련되는 것으로 보여진다.

셀레늄 화합물중에 sodium selenite는 +4가 화합물로서 DNA손상(Nakamuro 등, 1976; Noda 등, 1979)과 염색체변이(Whiting 등, 1980)를 유발한다는 사실이 이미 밝혀져 있으며, elemental selenium(0)이나 selenite(-2)

**Table 3.** The Frequency of SCEs in Lymphocytes Treated for 48 hr With Various Concentrations of Cadmium Chloride and 1.2  $\mu\text{M}$  of Sodium Selenite.

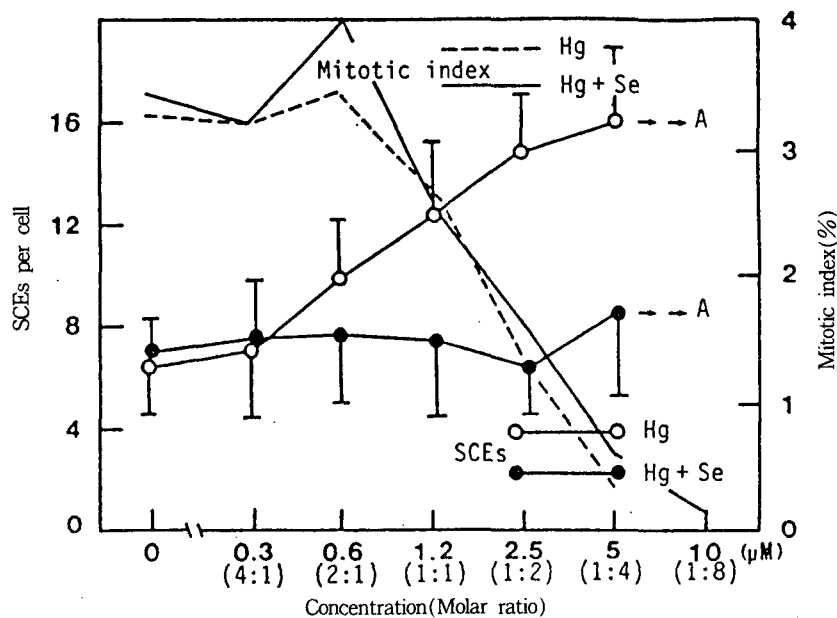
Treatment	Concentration of $\text{CdCl}_2$ (M)	Molar ratio <sup>a</sup>	SCEs per cell	Mitotic index(%)
A	Control		6.7±2.65	4.2
	$3 \times 10^{-7}$		7.2±3.69	3.9
	$6 \times 10^{-7}$		7.3±3.12	2.3
	$1.2 \times 10^{-6}$		8.2±3.08	2.5
	$2.5 \times 10^{-6}$		8.9±2.84**	1.9
	$5 \times 10^{-6}$		11.4±5.56***	0.8
	$1 \times 10^{-5}$		11.2±4.13***	0.4
B	Control		6.5±2.95	3.8
	$3 \times 10^{-7}$	4:1	7.1±1.72	2.8
	$6 \times 10^{-7}$	2:1	7.5±2.51	2.6
	$1.2 \times 10^{-6}$	1:1	8.1±2.54*	2.2
	$2.5 \times 10^{-6}$	1:2	6.9±2.92	2.3
	$5 \times 10^{-6}$	1:4	7.1±2.70*	1.7
	$1 \times 10^{-5}$	1:8	11.2±3.67***	1.2

<sup>a</sup> Molar ratio of selenium vs. cadmium.

A Selenium free.

B Combine with 1.2  $\mu\text{M}$  of sodium selenite.

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.005$ .



**Fig. 1.** The frequencies of sister chromatid exchanges per one metaphase cell are increased in the higher concentrations of methylmercury chloride, while they are significantly decreased in the condition to combine with sodium selenite 1.2  $\mu\text{M}$ . "A" indicates that SCEs cannot be scored because few first-stage metaphase cells are found.

**Table 4.** The Frequency of SCEs in Lymphocytes Treated for 48 hr With Various Concentrations of Potassium Dichromate and 1.2  $\mu$ M of Sodium Selenite.

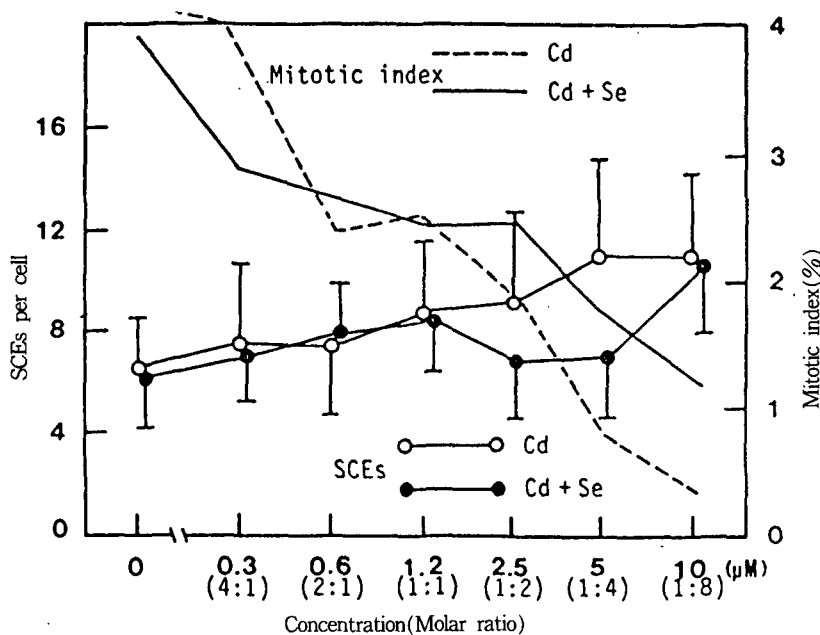
Treatment	Concentration of $K_2Cr_2O_7$ (M)	Molar ratio <sup>a</sup>	SCEs per cell	Mitotic index(%)
A	Control		7.0±2.58	3.8
	$3 \times 10^{-7}$		7.8±3.09	3.2
	$6 \times 10^{-7}$		8.8±2.74*	3.5
	$1.2 \times 10^{-6}$		9.9±3.50**	2.3
	$2.5 \times 10^{-6}$		9.3±3.21**	2.3
	$5 \times 10^{-6}$		11.5±4.07***	1.9
	$1 \times 10^{-5}$		14.9±6.43***	1.6
B	Control		6.7±2.63	3.2
	$3 \times 10^{-7}$	4:1	7.4±2.74	2.9
	$6 \times 10^{-7}$	2:1	8.5±2.65*	2.1
	$1.2 \times 10^{-6}$	1:1	8.8±2.00*	2.6
	$2.5 \times 10^{-6}$	1:2	8.6±2.86**	1.9
	$5 \times 10^{-6}$	1:4	11.1±3.59***	2.5
	$1 \times 10^{-5}$	1:8	14.1±6.25***	2.0

<sup>a</sup> Molar ratio of selenium vs. cadmium.

A Selenium free.

B Combine with 1.2  $\mu$ M of sodium selenite.

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.005$ .



**Fig. 2.** The frequencies of sister chromatid exchanges per one metaphase cell are increased in the higher concentrations of cadmium chloride, while they are significantly decreased in the condition to combine 1.2  $\mu$ M of sodium selenite.

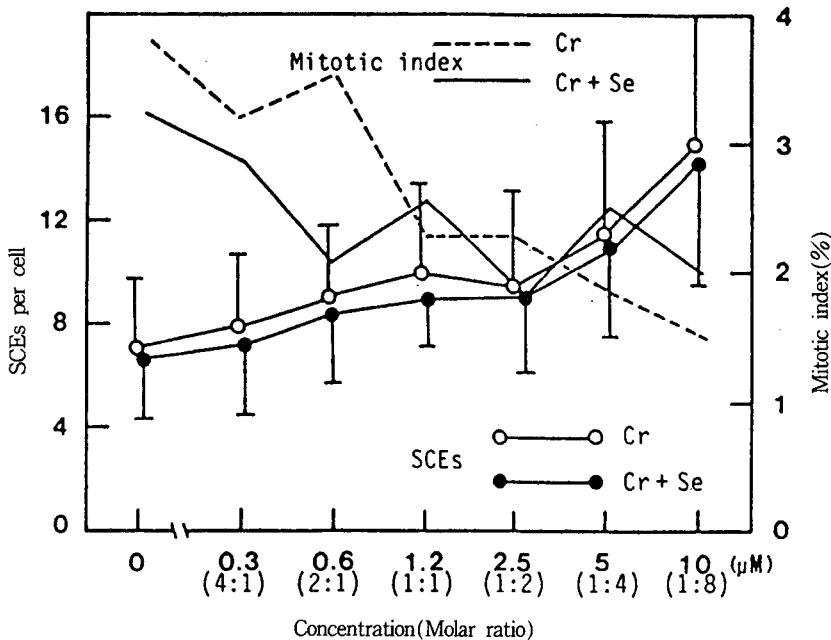


Fig. 3. The frequencies of sister chromatid exchanges per one metaphase cell are increased in the higher concentrations of potassium dichromate, which are not different to the condition added 1.2 μM of sodium selenite.

보다는 낮은 수준이지만 혈액배양에서 첨가농도에 따라 SCE빈도를 현저히 증가시키기가 관찰되었다(Ray와 Altenburg, 1980).

본 실험에서 sodium selenite는 2.5 μM 이상의 농도에 서 세포당 10회 이상의 SCE빈도를 나타내 Ray와 Altenburg (1978, 1980)의 결과와 큰 차가 없으며, 0.3 μM에서 5 μM의 농도범위에서 수은보다는 다소 낮지만 카드뮴과 크롬에 비하면 동등한 수준의 SCE빈도변화를 나타내 중금속들과의 상호작용에 의한 변화를 관찰하는데 별다른 어려움이 없다고 판단된다.

Sodium selenite를 1.2 μM의 농도로 중금속과 동시에 첨가시켰을 때, +6가크롬 화합물인 potassium dichromate에 의한 SCE빈도는 sodium selenite의 동시첨가와 무관한 것으로 나타났으나 +2가 수은화합물인 methylmercury chloride와는 몰(mol)농도비가 2:1, 1:1, 1:2 및 1:4의 조건에서 역시 +2가의 카드뮴 화합물인 cadmium chloride와는 1:2 및 1:4의 조건에서 각각의 SCE발현능력이 상쇄되므로서, 중금속의 세포독성에 대한 셀레늄의 억제작용이 수은외에도 카드뮴에서 동일하게 나타나는 것으로 보여진다.

항암효과나 중금속의 독성억제를 나타내는 셀레늄의 작용기전이 Ganther(1971), Rotruck 등(1973) 및 Hoeckstra (1975)들의 연구결과에서와 같이 glutathione peroxidase를 경유하는 단일 기전에 의해 나타난다는 사실을 인정한다면 중금속 처리로 인한 SCE빈도상승을 억제하는 셀레늄의 효과는 수은 뿐만 아니라 카드뮴과 크롬에 대해서도 동일한 양상을 보일 것이 예상된다. 그러나 본 실험의 결과는 셀레늄에 의한 SCE빈도상승의 억제가 수은과 카드뮴에서만 나타날 뿐, 크롬에 대해서는 셀레늄의 첨가와 무관하게 SCE빈도변화를 관찰할 수 없기 때문에 제중금속들과 셀레늄과의 SCE빈도에 관한 상호작용을 glutathione peroxidase의 활성으로만 설명하기에는 어려움이 있다고 사료된다.

Ray와 Altenburg(1980)는 같은 셀레늄화합물이라 해도 0가와 -2가의 셀레늄이 SCE빈도를 보다 높은 수준으로 증가시킨다는 사실에 앞서 sodium selenite의 SCE발현능력이 적혈구가 포함된 전혈배양(whole blood culture) 조건에서 임파구만을 분리 배양한 경우보다 높게 나타난다는 것을 밝히고(Ray와 Altenburg, 1978), 그 이유로서 sodium selenite가 적혈구내에서 대사되어 SCE발현능력

이 상대적으로 높은 0가의 elemental selenium 및 -2가의 selenide로 전환된다는 점(Ganther, 1971)을 제시하고 있다. 따라서 본 실험에서 나타난 바와 같이 수은 및 카드뮴에 의해 유도된 SCE빈도가 셀레늄에 의해 보다 용이하게 억제됨은 +4가의 sodium selenite가 적혈구 대사 결과 -2가인 selenide를 생성하므로서 +6가인 크롬보다는 +2가인 수은 및 카드뮴과 보다 쉽게 화학결합을 이루어 세포독성이 적은 물질로 전환시키기 때문이라는 추측을 가능하게 한다.

한편 Sumino 등(1977)은 methylmercury의 독성을 셀레늄이 억제한다는 사실에 대해 생체내에서 셀레늄이 수은의 흡수, 배설 및 분해과정에는 영향을 주지 않으나 조직단백질과 결합하고 있는 수은을 유리시켜 독성을 발휘하지 않는 새로운 화합물을 형성하기 때문이라는 사실을 실험적으로 증명 한 바 있으며, Morimoto 등(1982)도 수은에 의한 SCE빈도 증가를 셀레늄이 억제한다는 현상에 대해 Sumino 등(1977)의 주장에 근거한 가설을 제시하고 있어 본 실험결과와 크게 모순되지 않는다.

본 실험에서는 화합물들을 가능한 같은 농도에서 비슷한 수준의 SCE빈도를 나타내는 종류로 선택한 까닭에 셀레늄의 중금속 독성에 대한 영향을 일반화하기에는 제한이 있다고 보며, 차후 다양한 원자가를 갖는 여러 화합물에 대한 실험이 뒷받침되어야 하겠으나, 중금속 독성에 방어효과를 나타내는 셀레늄의 작용기전은 셀레늄과 중금속들의 원자가에 따른 이들 상호간의 화학적결합의 용이성 여부가 중요한 요소임을 시사해 주고 있다.

## V. 요약

셀레늄이 수은, 카드뮴 및 크롬의 세포독성에 미치는 영향을 파악하고자 이들 중금속을 0.3  $\mu$ M에서 10  $\mu$ M까지 6개 농도로 각각 희석하여 1.2  $\mu$ M의 셀레늄과 함께 혈액 배양에 첨가하고, 48시간 경과후 fluorescence-plus-Giemsa 염색에 의해 2차분열 중기의 염색체에서 자매염색분체교환(SCE)현상을 관찰하여, 셀레늄을 첨가하지 않았을 때의 결과와 비교하였다.

셀레늄을 다른 중금속들의 경우와 동일한 농도로 단독 첨가한 경우 SCE빈도는 5.9 $\pm$ 2.64회에서 12.3 $\pm$ 3.99회의 범위로 변화였고, 수은은 6.5 $\pm$ 2.70회에서 15.7 $\pm$ 2.75회, 카드뮴은 6.7 $\pm$ 2.65회에서 11.2 $\pm$ 4.13회, 크롬은 7.

0 $\pm$ 2.58회에서 14.9 $\pm$ 6.43회의 범위로 농도증가에 비례하여 SCE빈도가 상승하였으며, 이때 세포분열지수는 공히 농도증가에 반비례하여 고농도군에서는 현저히 낮았다.

중금속들과 1.2  $\mu$ M의 셀레늄을 동시에 첨가시킨 조건에서는 수은의 경우, 셀레늄과 수은의 몰(mol)농도비가 1:1, 1:2, 1:4의 조건에서, 카드뮴의 경우 1:2 및 1:4의 조건에서 SCE빈도의 현저한 감소를 나타냈으나 크롬의 경우는 셀레늄의 첨가와 무관하였으며, 세포분열지수는 전반적으로 셀레늄의 첨가에 별다른 영향을 받지 않았다.

## 참고 문헌

- Awasthi YC, Beutler E, Srivastava SK. *Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. J Biol Chem* 1975; 250: 5144-5149
- Bradley MO, Hsu IC, Harris CC. *Relationships between sister chromatid exchanges and mutagenicity, toxicity and DNA damage. Nature* 1979; 282: 18-320
- Broghamer WL, McConnel KP, Blotcky AJ. *Relationship between serum selenium levels and patients with carcinoma. Cancer* 1976; 37: 1384-1388
- Broghamer WL, McConnel KP, Grimaldi M, Blotcky AJ. *Serum selenium and reticuloendothelial tumors. Cancer* 1978; 41: 1462-1466
- Carrano AV, Thompson LH, Lindl PA, Minkler JL. *Sister chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. Nature* 1978; 271: 551-553
- Castillo R, Landon C, Eckhardt K, Morris V, Levander O, Lewiston N. *Selenium and vitamin E status in celiac fibrosis. J Pediatr* 1981; 99: 583-585
- Ganther HE. *Reduction of the selenotrisulfide derivative of glutathione to a persulfide analog by glutathione reductase. Biochemistry* 1971; 10: 4089-4098.
- Ganther HE, Goudie C, Sunde ML, Kopecky MJ, Wagner P, Oh SH, Hoekstra WG. *Selenium: Relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. Science* 1972; 175: 1122-1124.
- Goodwin WJ, Lane HW, Bradford K, Marshall MV, Griffin AC, Geopfert H, Jesse RH. *Selenium and glutathione peroxidase levels in patients with epidermoid carcinoma of the oral cavity and oropharynx. Cancer* 1983; 51: 110-115
- Goto K, Maeda S, Kano Y, Sugiyama T. *Factors involved in differential Giemsa staining of sister chromatids. Chromosoma* 1978; 66: 351-359



- Goyer RA. Toxic effects of metals. In Klassen CD, Amdur MO, Doull J.(eds.), *Casarett and Doull's Toxicology, 3rd Ed., New York, Macmillan Publishing Co., 1986, pp.616-617*
- Hoekstra WG. Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. *Fed Proc* 1975; 34 : 2083-2089
- Horvath PM, Ip C. Synergistic effect of vitamin E and selenium in the chemoprevention of mammary carcinogenesis in rats. *Cancer Res* 1983; 43 : 5335-5341
- Ip C, Sinha DK. Enhancement of mammary tumorigenesis by dietary selenium deficiency in rats with a high polyunsaturated fat intake. *Cancer Res* 1981; 41 : 31-34
- Jacobs MM, Matney TS, Griffin AC. Inhibitory effects of selenium on the mutagenicity of 2-acetylaminofluorine(AAF) and AAF derivatives. *Cancer Lett* 1977; 2 : 319-322
- Jansson B. The role of selenium as a cancer-protecting trace element. In Sigel H.(ed.), *Metal ions in biological systems, Vol.10, carcinogenicity and metal ions, New York, Marcel Dekker Inc., 1980; pp.218-311*
- Krishna G, Nath J, Ong T. Inhibition of cyclophosphamide and mitomycin-induced sister chromatid exchanges in mice by vitamin C. *Cancer Res* 1986; 46 : 2670-2674.
- Latt SA. Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosome. *Proc Natl Acad Sci., U.S.A., 1973; 70 : 3395-3399*
- Lloyd-still JD, Ganther HE. Selenium and glutathione peroxidase levels in cystic fibrosis. *Pediatrics* 1980; 65 : 1010-1012
- Morimoto K, Iijima S, Koizumi A. Selenite prevents the induction of sister-chromatid exchanges by methylmercury and mercuric chloride in human whole-blood cultures. *Mutation Res., 1982; 102 : 183-192*
- Nakamuro K, Yoshikawa K, Sayato Y, Kurata H, Tonomura M, Tonomura A. Studies on selenium-related compounds, V. Cytogenetic effect and reactivity with DNA. *Mutation Res* 1976; 40 : 177-184
- Nelson AA, Fitzhugh OG, Calvery HO. Liver tumor following cirrhosis caused by selenium in rats. *Cancer Res., 943; 3 : 230*
- Noda M, Takano T, Sakurai H. Mutagenic activity of selenium compounds. *Mutation Res* 1979; 66 : 175-179
- Oh SH, Ganther HE, Hoekstra WG. Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from bovine erythrocytes. *Biochemistry* 1974; 13 : 1825-1829
- Parizek J, Ostadalova I. The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication. *Experientia, 1967; 23 : 142-143*
- Perry P, Evans HJ. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* 1975 : 121-125
- Perry P, Wolff S. New Giemsa method for differential staining of sister chromatids. *Nature* 1974; 251 : 156-158
- Ray JH, Altenburg LC. Dependence of the sister-chromatid exchange-inducing abilities of inorganic selenium compounds on the valence state of selenium. *Mutat Res., 1980; 78 : 261-266*
- Ray JH, Altenburg LC. Sister-chromatid exchange induction by sodium selenite : Dependence on the presence of red blood cells or red blood cell lysate. *Mutat Res., 1978; 54 : 343-354*
- Riley JF. Mast cells, cocarcinogenesis, and anticarcinogenesis in the skin of mice. *Experientia* 1966; 34 : 2083-2089
- Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG. Selenium : Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 1973; 179 : 588-590
- Salonen JT, Alfthan G, Huttunen JK, Pikkarainen J, Puska P. Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum in a matched-pair longitudinal study. *Lancet* 1982; ii : 175-179
- Salonen JT, Alfthan G, Huttunen JK, Puska P. Association between serum selenium and the risk of cancer. *Am J Epidemiol* 1984; 120 : 342-349
- Salonen JT, Salonen R, Lappetelainen R, Maenpaa PH, Alfthan G, Puska P. Risk of cancer in relation to serum concentrations of selenium and vitamins A and E : matched case-control analysis of prospective data. *Br Med J* 1985; 290 : 417-420
- Schober SE, Comstock GW, Helsing KJ, Selkeld RM, Moris JS, Ridder AA, Brookmeyer R. Serologic precursors of cancer I. Prediagnostic serum nutrients and colon cancer risk. *Am J Epidemiol* 1987; 126 : 1033-1041.
- Schroeder HA, Frost DV, Balassa JJ. Essential trace metals in man : Selenium. *J Chron Dis* 1970; 23 : 227, 243
- Schwarz K, Foltz CM. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Amer Chem Soc* 1957; 79 : 3292
- Shamberger RJ. Relationship of selenium to cancer I. ; Inhibitory effect of selenium on carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1970; 44 : 930-936
- Shamberger RJ, Beaman KD, Corlett CL, Kasten BL. Effect of selenium and other antioxidant on the mutagenicity of malonaldehyde. *Fed Proc* 1978; 32 : 261
- Shamberger RJ, Rudolf O. Protection against cocarcinogens by antioxidant. *Experientia* 1966; 22 : 116
- Shamberger RJ, Tytko SA, Willis CE. Antioxidant and cancer. part VI. Selenium and age-adjusted human cancer mortality. *Arch Environ Health* 1976; 31 : 231-235
- Smith THF. Selenium, tellurium, and osmium. In Zeuz C. (ed.), *Occupational medicine, principles and practical ap-*

- plications, 2nd Ed., Cicago, Year Book Medical Publishers Inc., 1988, pp.614-615*
- Sumino K, Yamamoto R, Kitamura S. *A role of selenium against methylmercury toxicity. Nature 1977; 268: 73-74*
- Thompson HJ, Meeker LD, Becci PJ. *Effect of combined selenium and retinal acetate treatment on mammary carcinogenesis. Cancer Res 1981; 41: 1413-1416*
- Thompson HJ, Meeker LD, Becci PJ, kokoska S. *Effects of short-term feeding of sodium selenite on 7, 12-dimethyl benzanthracene-induced mammary carcinogenesis in the rat. Cancer Res 1982; 42: 4954-4958*
- Whiting RF, wei L, Stich HF. *Unscheduled DNA synthesis and chromosome aberrations induced by inorganic and organic selenium compounds in the presence of glutathione. Mutation Res 1980; 78: 159-169*
- Willet WJ, Polk BF, Morris JS, Stampfer MJ, Pressel S, Rosner B, Taylor JO, Schneider K, Hames CG, *Prediagnostic serum and risk of cancer. Lancet 1983; ii: 130-133*
- Young VR. *Selenium: A case for its essentiality in man. NEJM 1981; 304: 1228-1230*
- 高大河, Mercury chloride 및 methylmercury chloride가 正常人的 血液培養에서 淋巴球의 姉妹染色分體交換에 미치는 影響. 豫防醫學會誌 1984; 17: 245-250
- 黃仁澹, 朴榮洙, 金有卓, 高大河, 李定相. 重金屬이 培養淋巴球의 姉妹染色分體交換에 미치는 影響. 全北醫大論文集 1986; 10: 1-9