

Bleomycin, Mitomycin C 및 Cadmium에 의한 CHO 세포의 적응반응

김양지 · 한정호* · 정해원

서울대학교 보건대학원, *서울대학교 의과대학

Adaptive Response in CHO Cells by Bleomycin, Mitomycin C and Cadmium

Yangjee Kim, Jungho Han* and Haiwon Chung

School of Public Health, Seoul National University

*College of Medicine, Seoul National University

ABSTRACT

Pretreatment with low concentration of Bleomycin and Cadmium rendered Chinese Hamster Ovary Cells more resistant to the induction of chromosome aberration by subsequent high concentration of same agent, however Mitomycin C did not function in that way. The cells pre-exposed to low dose of Cadmium did not show cross-resistance to challenge dose of Mitomycin C for the induction of chromosome aberration, but cells pre-exposed to Bleomycin showed cross resistance. And the cells pre-exposed to low dose of Mitomycin C showed cross resistance to challenge of Bleomycin, but Cadmium did not.

Keywords : Adaptive response, Chromosome aberration, CHO cells, Bleomycin, Mitomycin C, Cadmium

I. 서 론

적응반응 현상(adaptive response)은 *E. coli*에서 처음 연구¹⁾된 이래 식물세포²⁾, 동물세포³⁾ 그리고 사람의 림프구⁴⁻⁶⁾에서도 그 존재가 보고되고 있다. 적응반응 현상은 세균에서는 주로 알킬화 물질(alkylating agent)에 대해 연구되었으며, 사람 림프구를 대상으로 한 결과는 방사선에 관한 연구가 대부분이나 Mitomycin C⁶⁾, Bleomycin 등^{7,8)}의 물질에 대해서도 적응반응 현상이 나타남이 보고된 바 있다.

동물세포를 대상으로 한 연구는 상대적으로 그리 많지 않지만 Chinese hamster의 V₇₉ 세포의 경우 H³-dThd에 적응된 세포는 그 후의 높은 선량의 X선에 대해 방어효과를 나타낸다는 사실⁹⁾ 및 감마선에 적응된 세포는 Mitomycin C 및 자외선에 대해서 교차내성은 나타내었다는 것¹⁰⁾을 자매염색체 교환빈도(SCE)와 소핵세포(micronucleus)가 감소되는 것으로서 확인하였다.

또한 알킬화 물질을 대상으로 한 연구보고를 보면 Laval 등¹¹⁾은 흰쥐의 hepatoma 세포인 H₄ 세포를 대상으로 Methylmethanesulfonate(MMS)와 N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) 등에 적응된 세포는 그 후의 같은 물질에 고농도로 노출되었을 때 저항성을 나타낸다는 사실을 세포생존 및 돌연변이 유발 빈도로서 관찰하였으며 Samson 등³⁾은 CHO 세포에서 MNNG에 대한 적응반응 현상이 나타남을 역시 세포의 생존 및 SCE 빈도로서 보고하였다.

그러나 Anderson 등¹²⁾은 V₇₉ 세포를 대상으로 MNNG 및 MNU를 이용한 실험에서 SCE 빈도 및 돌연변이 유발빈도에 있어 적응반응 현상을 관찰하지 못했다고 보고한 경우도 있어서 상반된 결과를 보여주고 있으므로 세포의 종류 및 사용한 물질에 따라 차이가 남을 알 수 있다.

특히 배양 동물세포를 이용한 경우 염색체 이상 빈도로서 적응반응 현상을 조사한 보고는 거의 찾아

볼 수 없으며, 특히 DNA상에 각기 다른 형태의 손상을 일으키는 물질 즉 Bleomycin, Cadmium 및 Mitomycin C를 이용한 세포주기에 따른 적응반응이나 교차적응반응 현상은 아직 보고되지 않았다.

본 연구의 목적은 CHO 세포를 이용하여 세포주기를 감안하여 Bleomycin, Cadmium 및 Mitomycin C를 처리하였을 때 적응반응 현상 및 교차적응반응 현상이 존재하는지를 조사하는데 있다.

II. 재료 및 방법

1. 세포 배양

본 실험에 사용한 세포는 Chinese Hamster Ovary cells(CHO-K₁ 세포)이며 10% 우태아 혈청과 10 µg/ml의 penicillin 10 µg/ml 및 streptomycin이 포함된 MoCoy's 5A 배지에 37°C의 CO₂ 항온기에서 배양하면서 실험재료로 사용하였다.

2. 세포주기별 Bleomycin(BLM), Cadmium 및 Mitomycin C(MMC)에 의한 적응반응

CHO 세포에 적응용량(conditioning dose)의 물질을 처리하고 16시간 적응시킨 후 반응용량(challenging dose)의 같은 물질을 투여하였다. G₁기의 처리효과를 보기 위해 2시간 후 PBS로 두차례 세척한 다음 신선한 배양액을 넣고 16시간 추가배양하여 염색체 표본을 작성하였다.

적응용량은 MMC의 경우 최종농도가 1×10^{-8} M, 3×10^{-8} M 및 5×10^{-8} M로 BLM은 6.6×10^{-9} M 및 3.3×10^{-8} M로 그리고 카드뮴은 2×10^{-7} M로 하였다. 또한 반응용량은 MMC의 경우 5×10^{-6} M, BLM은 6.6×10^{-7} M, 9.9×10^{-7} M 및 3.3×10^{-6} M 그리고 카드뮴은 1×10^{-5} M이 되게 하였다.

3. 교차적응반응

카드뮴 및 BLM에 CHO 세포를 16시간 적응시키고 반응용량의 MMC를 처리하고 16시간 추가배양한 후 염색체 이상빈도를 관찰하여 G₁기에 반응용량을 처리했을 때 교차적응 반응이 나타나는가를 조사했으며 또한 MMC 및 카드뮴에 적응시킨 세포에 반응용량의 BLM을 처리하고 2시간 후 염색체 이상빈도를 관찰하여 G₂기에 반응용량을 처리했을 때의 효과를 관찰하였다.

적응용량은 MMC의 경우 5×10^{-8} M로 BLM은 6.6×10^{-9} M 그리고 카드뮴은 2×10^{-7} M로 하였으며, 또한 반응용량은 MMC의 경우 5×10^{-6} M, BLM은 9.9×10^{-7} M이었다.

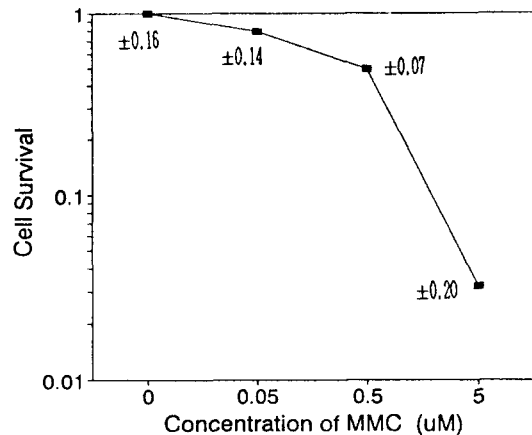


Fig. 1. The survival curve of CHO cells treated with Mitomycin-C.

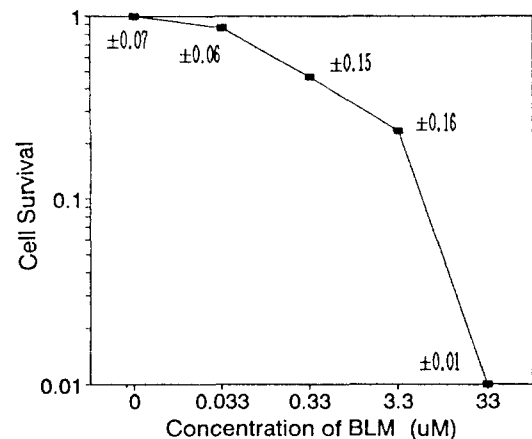


Fig. 2. The survival curve of CHO cells treated with Bleomycin.

4. 염색체 표본 작성

지수기의 세포에 Colcemid(2×10^{-7} M)을 가한 후 2시간 배양 후 세포를 수거하여 저장액(0.075 M KCl)을 처리하고 100% methanol에 5분간 전고정 후 다시 고정액(methanol : acetic acid = 3 : 1)에 2회 고정하여 염색체 표본을 작성하였다.

III. 결 과

1. 적응용량과 반응용량의 결정

각 농도별로 MMC 및 BLM을 투여한 후의 세포생존곡선은 Fig. 1, 2와 같다. 반응용량은 MMC는 5×10^{-6} M 그리고 BLM은 6.6×10^{-7} M에서 3.3×10^{-6} M로 하였고, 카드뮴의 경우는 맹과 정¹³⁾의 연구

Table 1. The frequency of chromosome aberration in CHO cells that were pre-exposed to low doses of bleomycin and subsequently treated with challenging doses of same agent during G₁

Conditioning treatment (M)	Challenging treatment (M)	No. of cell scored	Percent of aberrant cells	Structural aberrations/100 cells				
				chromatid type		chromosomal type		
				exchange	deletion	exchange	deletion	total
none	none	100	5.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0
6.6×10^{-9}	none	100	5.0	0.0	3.0	2.0	0.0	2.0
3.3×10^{-8}	none	100	9.0	0.0	2.0	4.0	0.0	4.0
none	6.6×10^{-7}	100	15.0	4.0	4.0	19.0	101.0	120.0
none	9.9×10^{-7}	100	19.0	4.0	1.0	30.0	92.0	122.0
none	3.3×10^{-6}	100	23.0	6.0	1.0	34.0	106.0	140.0
6.6×10^{-9}	6.6×10^{-7}	100	13.0	2.0	6.0	9.0	30.0	39.0
6.6×10^{-9}	9.9×10^{-7}	100	15.0	3.0	3.0	28.0	83.0	111.0
6.6×10^{-9}	3.3×10^{-6}	100	15.0	2.0	2.0	30.0	93.0	123.0
3.3×10^{-8}	6.6×10^{-7}	100	10.0	2.0	3.0	16.0	35.0	51.0
3.3×10^{-8}	9.9×10^{-7}	100	13.0	1.0	3.0	15.0	1.0	66.0
3.3×10^{-8}	3.3×10^{-6}	100	11.0	0.0	2.0	21.0	1.0	82.0
								(122.0)*
								(124.0)*
								(142.0)*
								(134.0)*
								(126.0)*
								(144.0)*

The numbers in parentheses indicate expected value (expected = sum of conditioning and challenging treatment minus the control).

*Observed frequency is significantly lower than expected ($p < 0.05$).

결과를 토대로 1×10^{-5} M이 되게 하였다. 적응용량은 대체로 반응용량의 1/100이 되게 하였는데 MMC의 경우 1×10^{-8} M, 3×10^{-8} M 및 5×10^{-8} M 로, BLM의 경우 6.6×10^{-9} M 및 3.3×10^{-8} M 그리고 카드뮴은 2×10^{-7} M로 하였다.

2. 세포주기별 BLM, MMC 및 카드뮴에 의한 적응반응

(1) BLM에 의한 적응반응

16시간 동안 BLM에 적응된 세포에 반응용량의 BLM을 처리하고 16시간 후에 염색체 이상빈도를 조사하여 G₁기에 처리했을 때의 효과를 조사하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 염색체형 이상 및 염색분체형 이상이 같이 관찰되지만 이동원 염색체(dicentric chromosome) 및 환상염색체(ring chromosome) 같은 교환형 이상과 결실(deletion)이 대부분을 이루고 있으며, 염색체이상 수도 농도 증가에 비례하여 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한 어떠한 농도의 적응용량에서도 적응반응 현상을 관찰할 수 있었지만, 특히 6.6×10^{-9} M 및 3×10^{-8} M 농도에 적응된 경우 6.6×10^{-7} M의 반응용량에 의해 염색

체형 이상빈도가 기대치 122개 및 134개에 비해 39개 및 51개만이 관찰되어 뚜렷한 적응반응 현상을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$).

저농도의 BLM에 적응된 세포를 14시간 배양한 후 반응용량의 BLM을 처리하여 G₂기의 효과를 조사하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 G₁의 실험과는 달리 대부분 염색분체형 염색체 이상으로, 역시 농도 증가에 비례하여 증가하는 것을 알 수 있었다. 앞의 G₁기의 실험보다 뚜렷한 적응반응 현상을 관찰할 수는 없었지만 6.6×10^{-9} M 및 3.3×10^{-8} M에 적응시키고 9.9×10^{-7} M의 농도의 반응용량을 처리했을 때 통계적으로 유의한 결과($p < 0.05$)를 얻을 수 있었다.

(2) MMC에 의한 적응반응

저농도의 MMC에 적응된 세포에 G₁기에 반응용량의 MMC를 처리한 결과는 Table 3과 같은데 나타나는 염색체 이상은 대부분 염색분체형 이상이었으나 염색체형 이상도 관찰되었다. 그러나 3가지 농도의 적응용량 모두에서 5×10^{-6} M의 반응용량을 처리했을 때 적응반응 현상을 관찰할 수 없었다.

또한 G₂기의 효과를 보기 위한 실험에서도 Table

Table 2. The frequency of chromosome aberration in CHO cells that were pre-exposed to low doses of bleomycin and subsequently treated with challenging doses of same agent during G₂

Conditioning pretreatment (M)	Challenging treatment (M)	No. of cell scored	Percent of aberrant cells	Structural aberrations/100 cells				
				chromatid type			chromosomal type	
				exchange	deletion	total ^a	exchange	deletion
none	none	150	4.0	0.0	2.0	2.0±1.2	2.0	0.0
6.6×10 ⁻⁹	none	150	5.0	0.0	3.0	3.0±0.9	2.0	0.0
3.3×10 ⁻⁸	none	150	14.0	1.3	8.7	10.0±0.0	4.0	1.3
none	6.6×10 ⁻⁷	150	11.3	0.0	12.0	12.0±2.8	1.3	0.0
none	9.9×10 ⁻⁷	150	12.0	0.6	13.3	13.9±4.9	0.0	0.0
none	3.3×10 ⁻⁶	150	21.9	0.0	17.3	17.3±4.2	0.6	0.0
6.6×10 ⁻⁹	6.6×10 ⁻⁷	150	9.5	0.6	10.7	11.3±2.9 (11.3)	3.3	0.0
6.6×10 ⁻⁹	9.9×10 ⁻⁷	150	8.0	0.6	6.7	7.3±2.8* (14.9)	0.6	0.0
6.6×10 ⁻⁹	3.3×10 ⁻⁶	150	13.0	0.0	12.0	12.0±3.2 (12.0)	4.0	0.0
3.3×10 ⁻⁸	6.6×10 ⁻⁷	150	14.7	0.0	12.0	12.0±0.0 (18.3)	3.3	3.3
3.3×10 ⁻⁸	9.9×10 ⁻⁷	150	13.3	0.6	12.7	13.3±5.6* (21.9)	0.6	0.0
3.3×10 ⁻⁸	3.3×10 ⁻⁶	150	20.7	1.3	17.3	18.3±3.5 (25.3)	5.3	0.6

The numbers in parentheses indicate expected value (expected=sum of conditioning and challenging treatment minus the control).

*Observed frequency is significantly lower than expected (p<0.05).

^aEach data is the mean and standard deviation of independent experiments.

Table 3. The frequency of chromosome aberration in CHO cells that were pre-exposed to low doses of mitomycin-C and subsequently treated with a challenging dose of same agent during G₁

Conditioning pretreatment (M)	Challenging treatment (M)	No. of cell scored	Percent of aberrant cells	Structural aberrations/100 cells				
				chromatid type			chromosomal type	
				exchange	deletion	total	exchange	deletion
none	none	100	2.0	0.0	2.0	2.0	0.0	0.0
1×10 ⁻⁸	none	100	1.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0
3×10 ⁻⁸	none	100	3.0	0.0	3.0	3.0	0.0	0.0
5×10 ⁻⁸	none	100	4.0	3.0	3.0	6.0	0.0	0.0
none	5×10 ⁻⁶	100	88.0	138.0	53.0	191.0	2.0	0.0
1×10 ⁻⁸	5×10 ⁻⁶	100	86.0	155.0	64.0	219.0 (190.0)	2.0	0.0
3×10 ⁻⁸	5×10 ⁻⁶	100	81.0	115.0	74.0	189.0 (192.0)	2.0	0.0
5×10 ⁻⁸	5×10 ⁻⁶	100	88.0	119.0	101.0	220.0 (195.0)	2.0	0.0

The numbers in parentheses indicate expected value (expected=sum of conditioning and challenging treatment minus the control).

Table 4. The frequency of chromosome aberration in CHO cells that were pre-exposed to low doses of mitomycin-C and subsequently treated with a challenging dose of same agent during G₂

Conditioning pretreatment (M))	Challenging treatment (M)	No. of cell scored	Percent of aberrant cells	Structural aberrations/100 cells				
				chromatid type			chromosomal type	
				exchange	deletion	total	exchange	deletion
none	none	100	3.0	0.0	3.0	3.0	0.0	0.0
1×10 ⁻⁸	none	100	4.0	0.0	4.0	4.0	0.0	0.0
3×10 ⁻⁸	none	100	4.0	0.0	4.0	4.0	0.0	0.0
5×10 ⁻⁸	none	100	4.0	1.0	4.0	5.0	0.0	0.0
none	5×10 ⁻⁶	100	10.0	0.0	10.0	10.0	0.0	0.0
1×10 ⁻⁸	5×10 ⁻⁶	100	10.0	0.0	10.0	10.0	0.0	1.0
3×10 ⁻⁸	5×10 ⁻⁶	100	11.0	1.0	10.0	11.0	0.0	0.0
5×10 ⁻⁸	5×10 ⁻⁶	100	15.0	1.0	15.0	16.0	0.0	3.0

Table 5. The frequency of chromosome aberration in CHO cells that were pre-exposed to a low dose of cadmium and subsequently treated with a challenging dose of same agent during G₁

Conditioning pretreatment (M))	Challenging treatment (M)	No. of cell scored	Percent of aberrant cells	Structural aberrations/100 cells				
				chromatid type			chromosomal type	
				exchange	deletion	total	exchange	deletion
none	none	300	4.7	0.7	4.0	4.7±1.2	0.0	0.0
2×10 ⁻⁷	none	300	6.3	0.0	6.7	6.7±2.0	0.0	0.0
none	1×10 ⁻⁵	300	39.3	10.7	45.0	55.7±7.0	0.3	0.0
2×10 ⁻⁷	1×10 ⁻⁵	300	37.3	10.3	38.3	48.6±3.5* (57.7)	0.0	0.0

The numbers in parentheses indicate expected value (expected = sum of conditioning and challenging treatment minus the control).

*Observed frequency is significantly lower than expected ($p < 0.05$).

^aEach data is the mean and standard deviation of independent experiments.

4에서 보는 바와 같이 모든 농도의 적응용량에서 적응반응 현상을 관찰할 수 없었다.

(3) 카드뮴에 의한 적응반응

카드뮴의 경우는 2×10⁻⁷M 농도의 적응용량과 1×10⁻⁵M 농도의 반응용량을 처리하였는데 Table 5에서 보는 바와 같이 염색분체형 염색체 이상이 48.6개로 기대치 57.7개로 유의한 차이($p < 0.05$)가 나타나 적응반응 현상을 인정할 수 있었다.

3. 교차적응반응

카드뮴 및 BLM에 적응된 세포의 G₁기에 MMC를 처리하여 교차적응 반응 현상을 조사한 결과는 Table 6과 같은데 카드뮴에 적응된 세포의 경우 염색분체형 이상이 56개로 기대치 49.7개 보다 오히려 증가된 결과를 나타내었지만 BLM에 적응된 세포는 34개의 염색분체형 이상이 관찰되어 기대치 47.7개

보다 통계적으로 유의한 감소($p < 0.05$)를 보여주어 교차적응반응을 나타냄을 알 수 있었다.

또한 MMC 및 카드뮴에 적응된 세포의 G₂기에 BLM을 처리한 결과는 Table 7과 같은데 MMC에 적응된 경우에는 BLM에 교차적응반응($p < 0.05$)을 나타내었지만 카드뮴이 적응된 경우는 교차적응반응을 관찰할 수 없었다.

IV. 고 찰

적응반응 현상은 알킬화 물질 및 방사선 등의 돌연변이 유발물질에 매우 낮은 농도(적응용량)로 피폭된 세포가 그 후의 높은 농도(반응용량)의 동일한 물질이나 작용기전이 비슷한 물질에 노출되었을 때 보호효과를 나타내는 현상을 말한다. 이에 의한 연구는 Samson과 Cairns¹⁾가 *E. coli*를 대상으로

Table 6. The frequency of chromosome aberration in CHO cells that were pre-exposed to low doses of bleomycin, cadmium and subsequently treated with a challenging dose of mitomycin C during G₁

Conditioning pretreatment (M)	Challenging treatment (M)	No. of cell scored	Percent of aberrant cells	Structural aberrations/100 cells					
				chromatid type			chromosomal type		
				exchange	deletion	total ^a	exchange	deletion	
none	none	150	3.0	0.0	1.0	1.0±0.7	1.0	1.0	
2×10 ⁻⁷	none	150	7.0	1.0	4.0	5.0±2.2	2.0	0.0	
(Cd)									
6.6×10 ⁻⁹	none	150	4.0	0.0	3.0	3.0±1.5	1.0	0.0	
(BM)									
none	5×10 ⁻⁶	250	38.4	26.5	19.2	45.7±9.5	2.8	0.4	
	(MC)								
2×10 ⁻⁷	5×10 ⁻⁶	200	44.0	26.5	29.5	56.0±9.7	4.0	0.5	
(Cd)	(MC)					(49.7)			
6.6×10 ⁻⁹	5×10 ⁻⁶	250	30.4	18.0	16.0	34.0±2.1*	2.0	0.0	
(BM)	(MC)					(47.7)			

The numbers in parentheses indicate expected value (expected = sum of conditioning and challenging treatment minus the control).

*Observed frequency is significantly lower than expected (p<0.05).

^aEach data are the mean and standard deviation of independent experiments.

Table 7. The frequency of chromosome aberration in CHO cells that were pre-exposed to low doses of mitomycin C, cadmium and subsequently treated with a challenging dose of bleomycin during G₂

Conditioning pretreatment (M)	Challenging treatment (M)	No. of cell scored	Percent of aberrant cells	Structural aberrations/100 cells					
				chromatid type			chromosomal type		
				exchange	deletion	total ^a	exchange	deletion	
none	none	200	3.0	0.0	3.0	3.0±0.5	0.0	0.0	
5×10 ⁻⁸	none	200	5.0	0.0	5.0	5.0±3.2	0.0	0.0	
(MC)									
2×10 ⁻⁷	none	200	4.0	0.0	4.0	4.0±2.0	0.0	0.0	
(Cd)									
none	9.9×10 ⁻⁷	200	15.0	0.0	16.0	16.0±2.8	0.0	0.0	
	(BM)								
5×10 ⁻⁸	9.9×10 ⁻⁷	200	13.0	0.5	8.5	9.0±0.7*	3.5	0.0	
(MC)	(BM)					(18.0)			
2×10 ⁻⁷	9.9×10 ⁻⁷	200	20.0	1.0	16.5	17.5±4.9	3.0	0.0	
(Cd)	(BM)					(17.0)			

Numbers in parentheses indicate the expected value (expected = sum of conditioning and challenging treatment minus the control).

*Observed frequency is significantly lower than expected (p<0.05).

^aEach data is the mean and standard deviation of independent experiments.

로 알킬화 물질에 대해 연구된 이래 세균 뿐만 아니라 효모¹⁴⁾, 식물세포²⁾, 동물세포³⁾ 그리고 사람의 림프구에서 적응반응 현상이 나타남이 보고된 바 있다.

그러나 적응반응 현상은 특정세포에서 특정한 물질에 대해 특정한 시기에만 관찰되기 때문에 세포의

특성 및 사용한 물질의 종류와 처리농도 및 세포 주기에 따라 그 결과가 상이하게 나타나므로 적응반응 현상을 이해하는데 어려움이 있다.

현재까지 배양된 동물세포를 대상으로 한 연구결과는 그리 많지 않으며 특히 CHO세포를 대상으로 MMC, BLM 및 카드뮴의 적응반응과 교차적응반

응에 관한 연구는 찾아볼 수 없었다.

본 실험에서 BLM에 적응된 세포는 반응용량의 BLM을 G₁기에 처리한 경우 모두 적응반응 현상을 관찰할 수 있었으며, 특히 G₁기에 처리했을 때 이동원 염색체 및 환상 염색체 그리고 결실 등을 포함한 염색체형 염색체 이상빈도가 감소한 것으로 나타났는데 이러한 염색체형 염색체 이상빈도로서 적응반응을 관찰한 경우는 아직 보고된 바 없으며 다만 Wang 등¹⁵⁾의 최근 연구에서 사람의 림프구에서 전리방사선에 대한 적응반응 현상을 염색체형 염색체 이상빈도로 보고하였다.

즉 현재까지의 대부분의 연구에서는 알킬화 물질이나 화학물질을 이용하거나 전리방사선 및 BLM을 이용하더라도 주로 G₂기의 효과만을 조사하였기 때문에 염색분체형 염색체 이상빈도로서 적응반응 현상이 보고되었다.

MMC에 적응된 세포의 경우 반응용량의 MMC를 G₁기나 G₂기에 처리했을 때 모두 적응반응 현상을 관찰할 수 없었다. 이러한 결과는 사람 림프구를 대상으로 한 정과 김⁶⁾의 연구결과에서 3가지의 적응용량 중 5×10^{-8} M에 적응된 경우는 G₁기에 반응용량의 MMC를 처리한 경우 적응반응 현상을 관찰하였다는 보고와는 차이가 있는데, 사용된 세포의 종류에 따라 그 결과가 상이함을 알 수 있었다. 또한 카드뮴의 경우에서도 적응반응 현상을 확인할 수 있었는데, 본 실험에서 이용한 3가지 물질은 각각 DNA상에 유발하는 상해의 종류가 상이한 물질로서 그들 물질에 대한 DNA 회복기전이 차이가 남아 알려져 있다. 즉 BLM은 DNA상에 D.S.B.(Double Strand Break)를 유발하고 MMC는 DNA-cross-link를 유발하며 카드뮴은 S.S.B.(Single Strand Break)를 유발하기 때문에 각 물질의 특성이나 세포의 종류에 따라 적응반응 현상이 나타나는 양상이 차이가 남을 알 수 있었다.

이들 DNA상에 각기 다른 상해를 받는 세포가 각기 다른 상해를 유발하는 물질에 대해 교차적응 반응을 나타내는지 여부를 조사하기 위해 수행된 실험결과 중(Table 7) BLM에 적응된 세포가 MMC에 대해 그리고 MMC에 적응된 세포가 BLM에 대해 교차적응을 나타냄을 알 수 있었는데 이러한 결과는 아직 보고된 바 없다.

Wolff 등¹⁶⁾은 X선에 적응된 사람의 림프구가 MMC에 대해 교차적응반응을 나타내었다고 보고하였는데, X선은 BLM과 같이 DNA상에 D.S.B.를 유발하기 때문에 그 적응반응 기전이 유사하리라고 추정해 볼 수 있다. 즉 적응용량의 X선에 의해 특정

단백질이 생성되었다고 보고한 Wolff의 결과로서 그 기전을 추정해 볼 수는 있지만 아직까지 X선 이외의 물질에 의해 유도되는 특정 단백질에 관한 연구는 없기 때문에 이러한 교차적응반응 현상을 단정적으로 설명할 수는 없다. 또한 카드뮴에 적응된 세포는 MMC 처리에 의해 오히려 염색체 이상빈도가 증가되는 효과를 볼 수 있었는데 이러한 현상은 Wolff 등이 사람 림프구를 대상으로 한 실험에서 X선에 적응된 세포는 알킬화 물질인 MMS를 처리했을 때 상승효과를 보고한 바 있기 때문에 사용된 물질에 따라서도 그 결과가 상이하게 나타날 수 있음을 알 수 있었다.

V. 요약 및 결론

CHO 세포에 DNA상에서 각기 다른 형태의 손상을 일으키는 물질인 Bleomycin, 카드뮴 및 Mitomycin C를 처리하였을 때 적응반응 현상을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. CHO 세포에서 Bleomycin 및 카드뮴에 대한 적응반응 현상을 관찰할 수 있었으나 Mitomycin C에 대해서는 관찰할 수 없었다.

2. 카드뮴에 적응된 CHO 세포의 경우 Mitomycin C에 대해 교차적응반응이 관찰되었지만 Bleomycin에 적응된 경우 Mitomycin C에 대해 교차적응반응을 나타내지 못하였으나, Bleomycin에 적응된 경우 Mitomycin C에 대한 적응반응을 관찰할 수 있었으며, Mitomycin C에 대해 적응된 세포는 Bleomycin에 대해 교차적응반응을 나타내었지만 카드뮴에 적응된 경우 교차적응반응을 나타내지 못하였다.

참고문헌

- 1) Samson, L. and Cairns, J., A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*. *Nature* (London), **267**, 281-283 (1977).
- 2) Heindorff, K., Rieger, R., Schubert, I., Michaelis, A. and Aurich, O., Clastogenic adaptation of plant cells-reduction of the yield of clastogen-induced chromatid aberrations by various pretreatment procedure. *Mutation Res.* **181**, 157-171 (1987).
- 3) Samson, L. and Schwartz, J. L., Evidence for an adaptive DNA repair pathway in CHO and human skin fibroblast cell lines, *Nature* (London), **287**, 861-863 (1980).
- 4) Olivieri, G., Bodycote, J. and Wolff, S., Adaptive

- response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine. *Science*, **223**, 594-597 (1984).
- 5) Wolff, S., Adaptive response of human lymphocytes to very low dose of radiation from tritiated thymidine of X-rays : a case of induced repair. Japan-U.S. Workshop P-133 on Tritium Radiobiology and Health Physics, Kyoto. 8-10 (1988).
 - 6) Chung, H. W. and Kim, Y. J., Adaptive response in human lymphocytes by Bleomycin and Mitomycin C. In press, *Korean J. Genetics*, **14**, 3 (1992).
 - 7) Burkart, W., Heusser, P. and Vijayalaxmi, Microdosimetric constraints on specific adaptation mechanisms to reduce DNA damage caused by ionizing radiation, *Radiation Protection Dosimetry*, **31**, 269-274 (1990).
 - 8) Burkart, W. and Vijayalaxmi, Resistance and cross-resistance to chromosome damage in human blood lymphocytes adapted to Bleomycin. *Mutation Res.* **211**, 1-5 (1989).
 - 9) Ikushima, T., Chromosomal response to ionizing radiation reminiscent of an adaptive response in cultured Chinese hamster cells. *Mutation Res.* **180**, 215-221 (1987).
 - 10) Ikushima, T., Radio-adaptive response : Characterization of a cytogenetic repair induced by low-level ionizing radiation in cultured Chinese hamster cells. *Mutation Res.* **227**, 241-246 (1989).
 - 11) Laval, F. and Laval, J., Adaptive response in mammalian cells : Cross reactivity of different pre-treatments on cytotoxicity as contrasted to mutagenicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, **81**, 1062-1066 (1984).
 - 12) Anderson, D., Fisher, P., Jenkinson, P. C. and Phillips, B. J., Studies of the adaptive repair response in human lymphocytes and V₇₉ cells after treatment with MNNG and HNU. *Human Toxicol.* **7**, 337-341 (1980).
 - 13) Maeng, S. H. and Chung, H. W., Chromosome aberration and sister chromatid exchange for the assessment of Cadmium toxicity. *Korean J. of Environmental Health Society* **17**, 110-119 (1991).
 - 14) Lindahl, T. and Sedgwich, B., Regulation and expression of the adaptive response to alkylating agents. *Ann. Rev. Biochem.* **53**, 133-157 (1988).
 - 15) Wang, Z. Q., Saigusa, S. and Sasaki, M. S., Adaptive response to chromosome damage in cultured human lymphocyte primed with low doses of X-ray. *Mutation Res.* **246**, 179-186 (1991).
 - 16) Wolff, S., Afzal, V., Wiencke, J. K., Olivieri, G. and Michealis, A., Human lymphocytes exposed to low doses of ionizing radiation become refractory to high doses of radiation as well as chemical mutagens that induce double-strand breaks in DNA. *Int. J. Radiat. Biol.* **53**, 39-48 (1988).

(Received August 17, 1992)