

생쥐 골수세포에서 아드리아마이신의 소핵생성에 미치는 N-마세틸시스테인의 억제효과

손수정 · 허인회* · 최성규** · 허문영****

국립보건안전연구원, *중앙대학교 약학대학, **동아제약(주) 중앙연구소, ***강원대학교 약학대학

(Received May 13, 1993)

Suppressive Effect of N-Acetylcysteine on the Adriamycin-Induced Micronuclei Formation in Mouse Bone-marrow Cells

Su Jung Sohn, In Hoe Huh*, Sung Gyu Choi** and Moon Young Heo****

Division of Genetic Toxicology, National Institute of Safty Research, Seoul 122-020, Korea

*College of Pharmacy, Chungang University, Seoul 156-756, Korea

**Research Lab., Dong-A Pharm. Co. Ltd., Kiheung-Up, Kyunggi-Do 449-900, Korea

***College of Pharmacy, Kangweon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract—The anticlastogenic effect of N-acetylcysteine was tested *in vivo* in mouse bone-marrow micronucleus assay. The frequencies of micronuclei induced by adriamycin (5 mg/kg i.p.) in bone-marrow cells were decreased by the oral administration of N-acetylcysteine at 12 h before adriamycin injection. The observed suppressing effect was not a reflection of a delay in the formation of micronuclei by the cytotoxic effect of N-acetylcysteine. The anticlastogenic effects of SH compound including N-acetylcysteine, cysteine, cystine, S-carboxy methylcysteine and glutathione were also investigated by the multiple pretreatment. Each SH compound was administered orally every day for 5 days and adriamycin (5 mg/kg i.p.) was injected at 24h after the last dose of test compound. N-acetylcysteine and glutathione showed significantly the suppressive effect at dose of 10 and 25 mg/kg for N-acetylcysteine and at the dose of 25 mg/kg for glutathione. Our study suggests that N-acetylcysteine is capable of protecting the chromosomal damages in the normal cells during cancer chemotherapy by adriamycin, and may act as an anticlastogen against induction of micronuclei by superoxide generating agent such as adriamycin.

Keywords □ Adriamycin, N-acetylcysteine, glutathione, anticlastogenic agent, micronucleus assay, cancer chemotherapy.

Adriamycin (ADM)은 *Streptomyces peucetius* var. *caesius*의 배지에서 분리된 anthracycline계 항암제의 대표적 약물로서 악성종양 중에 특히 백혈병과 임파종에 유효한 것으로 알려져 있다.¹⁻³⁾ 작용기전으로는 adriamycin의 amino기가 DNA의 인산기와 결합하여,⁴⁾ 이것이 DNA를 사슬로하는 DNA polymerase의 반응을 저해하여 DNA사슬의 절단을 일으킴으로서, 핵산 합성을 억제하여 항암효과를 나타내는 것으로 보고

되어 있다.⁷⁻¹⁰⁾ Adriamycin은 quinone함유 항암제로서, NADPH-microsomal system에서 free radical을 생성하며,^{11,12)} 이 free radical이 산소를 superoxide 음이온(O₂⁻)으로 변화 시킴으로서 lipid peroxidation을 일으켜 심장독성을 유발한다고 알려져있다.^{13,14)} 또한, 이 항암제의 지속적인 투여는 정상세포의 유전적 상해를 일으켜 또 다른 2차암을 유발시키기도 한다고 보고되었다.^{15,16)}

Adriamycin은 V79 Chinese hamster cell,¹⁷⁾ V79

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

Chinese hamster cell과 rat hepatocyte¹⁸⁾를 배양시킨 세포에서 돌연변이원성을 나타내었고, mouse lymphoma cell¹⁹⁾과, Drosophila를 이용한 반성열성치사 돌연변이실험^{20,21)}에서도 같은 결과를 나타내었다. 또한 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100을 이용한 Ames test에서도 양성의 결과를 나타내었으며,²²⁾ 생쥐의 골수세포를 이용한 소핵실험에서도 용량의존적인 염색체손상이 나타남이 보고되었다.²³⁾

최근, 이들 항암제의 항암효과에는 영향을 끼치지 않으면서 정상세포에 대한 독성을 감소시키려는 연구가 진행되고 있다. 특히 N-acetylcysteine(NAC)와 같은 sulfhydryl 함유 화합물들이 adriamycin의 심폐 독성을 예방하면서도 항암효과를 감소시키지는 않는 것으로 보고되었다.²⁴⁻²⁶⁾ 특히, NAC는 Ames 시험에서 N-methyl-N'-nitro-N-nitroso guanidine (MNNG),²⁷⁾ aflatoxin,²⁸⁾ benzo(a)pyrene^{27,28)}에 의해 유도된 변이원성을 억제시켰으며, SH화합물인 cysteamine,²⁹⁾ cysteine,³⁰⁾ glutathione,^{30,31)} oltipraz³²⁾ 등의 유전독성억제효과도 보고된 바있다. 그러나 이같은 대부분의 결과는 *Salmonella*균, 또는 *in vitro* mammalian cell을 이용한 mutation test나 *in vitro* DNA binding을 이용한 결과였으며, *in vivo* 수준의 연구는 거의 없었다. 이에 본 연구에서는 ADM의 항암효과에는 영향을 미치지 않고 심장독성 등을 경감시키고 있다고 밝혀진 NAC에 대하여 정상세포에 대한 염색체손상 억제효과를 생쥐 골수소핵실험을 이용하여 연구하였으며, NAC 이외에도 cysteine, cystine, S-carboxymethylcysteine(SCMC), 및 glutathione(GSH)의 ADM 유도 소핵생성에 대한 억제효과를 연구하였기에 보고하는 바이다.

실험방법

시약—Adriamycin(일동제약), N-acetylcysteine(보령제약), cysteine(Sigma Co.), cystine(Sigma Co.), S-carboxymethyl cysteine(현대약품), glutathione(제일약품), fetal bovine serum (Gibco Co.), methanol (Merck), phosphate buffer solution (Sigma Co.) 및 Giemsa solution (Fluka Co.)와 기타의 시약은 특급을 사용하였다.

Adriamycin은 주사용 증류수에 녹여 경구투여하였

으며, N-acetylcysteine, cysteine, glutathione은 주사용 증류수에 녹여 경구투여하였다. Cystine과 S-carboxymethylcysteine은 olive oil에 현탁시켜 경구투여하였다. 검체와 대조물질의 mouse에 대한 투여량은 체중 kg당 5 ml로 하여 각각 농도대로 제조하였다. 용매대조군으로는 주사용 증류수를 0.1 ml 경구투여한 것과 olive oil 0.1 ml 경구투여한 것 두가지로 하였다.

실험동물—일본 CLEA사로부터 구입하여 번식사육한 5~7주령의 SPF ddy mouse 수컷을 1주간 예비순화시킨 후 실험에 사용하였다. 사료는 mouse형 고형사료(신촌사료)를, 물은 상수를 자유로이 섭취하게 하였다. 동물은 온도 23±2°C, 상대습도 55±5%, 명암교대는 약 12시간으로 하였다.

소핵시험—마우스를 급사시켜 도살한 후 Schmid의 방법³³⁾에 따라 골수 도말 표본을 만든다. 이 실험 방법의 개요는 마우스의 대퇴골로부터 0.2 ml fetal calf serum을 이용하여 골수세포를 미세원심 분리관에 채취하고, 1,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 상등액을 버린다. Pellet를 다시 소량의 fetal calf serum으로 현탁시킨 후, 세포현탁액 소량을 슬라이드 상에 도말하고, 24시간 실온에서 풍건한다. 그후 건조된 슬라이드는 메탄올로 고정하고, 5% Giemsa solution(pH 6.8, Sörensens buffer)로 30분간 염색한다. 증류수로 세척한 후 현미경으로 관찰(1000배)하여, 생쥐 한 마리당 1000개의 다염성 적혈구(polychromatic erythrocyte:PCE) 중 소핵을 가진 소핵 다염성 적혈구(micronucleated polychromatic erythrocyte:MNPCE)의 생성빈도(%)를 구한다. 한편, 각 실험군당 마우스 3마리를 사용하여 총 3,000개의 PCE를 세었고, 유의성 검정은 Student's t-test로 하였다.

검체 투여방법—ADM을 주사용 증류수에 녹여 5 mg/kg 되게 조제하여 마우스 한마리당 0.1 ml(25g 기준)를 복강투여하였다. 복강투여 후 0, 2, 12, 24, 36, 48, 72시간에 각각 도살한 후, ADM에 의해 소핵이 가장 높게 유발되는 최소소핵생성빈도의 발현시간을 결정하였으며, 동일한 방법으로 NAC 100 mg/kg을 경구투여하여 NAC 자체에 의한 시간별 소핵생성빈도를 관찰하였다. 또한 NAC 100 mg/kg 투여후 ADM을 투여하여 NAC에 의한 소핵생성빈도의 지체효과를 관찰하였다. 한편, ADM을 0, 1, 3, 5, 7, 9 mg/kg되게 조제하여 복강투여하고, 상기 시험에서

관찰된 최고소핵생성빈도의 발현시간인 36시간 후에 각각 도살하여 ADM의 용량반응관계를 실험하였다.

한편 1회 투여시 NAC의 최적투여시간을 결정하기 위하여 ADM 투여 -2, -6, -12, -18, -24, -30, -36, -48시간에 NAC(1000 mg/kg)을 각각 1회 경구투여하였으며, 그후 Adriamycin(5 mg/kg, I.P.)을 투여하고, 36시간 후 소핵실험을 실시하여 최적전투여시간을 결정하였으며, 이 최적전투여시간에 NAC를 10, 25, 50, 100, 150, 200 mg/kg씩 각각 1회 경구투여하여 소핵생성억제효과와 용량과의 관계를 관찰하였다. 또 ADM에 대한 NAC의 연용투여시 소핵생성억제효과를 알기위하여 NAC를 5일간 1일 1회 용량 10, 25, 50 mg/kg을 경구투여하여, 최종 투여 24시간 후에 ADM(5 mg/kg, I.P.)을 투여하여 36시간 후 도살, 소핵실험을 실시하여 5일간 연용투여에 따른 NAC의 ADM 유발 소핵생성 빈도에 대한 억제효과를 관찰하였다. 이때 cysteine, cystine, SCMC 및 GSH도 동일하게 시험하여 비교하였다.

실험결과

Adriamycin의 소핵생성효과—ADM의 최고소핵생성빈도를 나타내는 최적시간을 결정하기위하여, ADM 5 mg/kg을 복강내 주사한 후, 각각의 시간에서 골수 세포 중의 MNPCEs를 구하였다. 그 결과 Fig. 1에서 나타낸것처럼 2, 12, 24, 30, 36시간으로 갈수록 소핵생성빈도의 증가를 나타내었으며, 36시간에서 1.10 ± 0.08 로 최고소핵생성빈도를 나타내었다 또한, 48, 72시간으로 진행되면서 소핵생성빈도는 다시 감소되는 경향을 나타내었다. 따라서, 최고의 소핵생성빈도를 나타내는 36시간을 ADM의 투여시간으로 하였다.

다음에 ADM의 최고소핵생성빈도를 나타내는 용량을 구하기 위하여 ADM을 0, 1, 3, 5, 7, 9 mg/kg 각각 복강내 투여한 후, 36시간이 경과한 다음 도살하여 골수소핵생성빈도를 조사하였다. 그 결과 Fig. 2에서 나타낸 것처럼 1, 3, 5 mg/kg까지는 용량의존적으로 소핵생성빈도가 증가하였으며, 5 mg/kg에서 1.20 ± 0.08 의 최고소핵생성빈도를 나타내었고, 7, 9 mg/kg으로 가면 다소 감소되는 경향을 나타내었다. 따라서 ADM의 최적투여용량을 5 mg/kg으로 하였다.

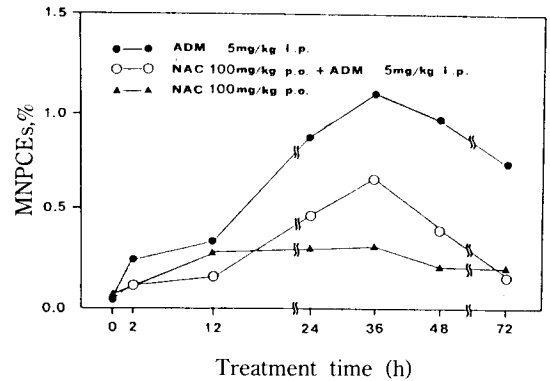


Fig. 1—Variations in course of time of the adriamycin-induced MNPCEs in bone-marrow cells of mice. With treatment(○), without treatment(●) of NAC, and treatment of NAC only(▲).

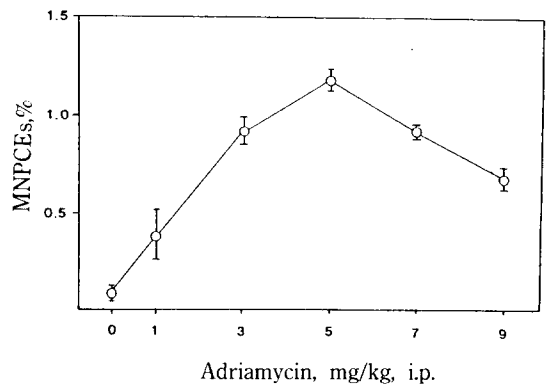


Fig. 2—Effect of adriamycin concentration on MNPCEs in mouse bone-marrow cells. Mice were sacrificed after 36h of adriamycin injection. Data points and bars represent mean \pm S.E.

NAC가 가질 수 있는 세포독성에 의한 소핵생성의 지체효과를 평가하기 위하여 NAC 100 mg/kg을 경구투여하고 12시간이 경과한 후에 ADM 5 mg/kg을 복강내 투여하여 시간 결과별로 0, 2, 12, 24, 36, 48, 72시간 후에 도살하여 소핵생성빈도를 조사하였다. Fig. 1에서 볼 수 있는 것처럼 ADM 5 mg/kg을 단독투여하여 얻은 소핵유발율과 비슷한 경향의 ADM 투여 36시간 후에 가장 높은 소핵 유발율을 나타내었고 전시간에 걸쳐 ADM단독투여시보다 훨씬 억제된 낮은 소핵생성빈도를 보여주었다. 또한, NAC 자

체의 소핵생성빈도를 조사하기 위하여 NAC 100 mg/kg을 경구투여한 후 0, 6, 12, 24, 36, 48, 72시간별로 도살하여 소핵생성빈도를 검정하였다. Fig. 1.에 나타난 것처럼 대체적으로 0.25% 정도의 낮은 소핵생성 빈도를 나타내었다.

N-Acetylcysteine의 소핵생성 억제효과—NAC 1,000 mg/kg을 ADM 투여 48, 36, 30, 24, 18, 12, 6, 2시간전에 각각 경구 투여하고, ADM 5 mg/kg을 복강내 투여한 후 36시간 후에 도살하여 소핵생성빈도를 검정하였다. Table I에 나타난 것처럼 NAC 1,000 mg/kg을 adriamycin투여 12, 18, 24시간 전에 투여하였을 때 각각 18, 18, 20%의 소핵 유발 억제율을 나타내었다. 본 실험에서는 NAC의 최적전투여시간을 ADM 투여전 12시간으로 정하고 다음 실험에 이용

하였다. 한편, NAC의 소핵생성억제효과에 대한 용량-반응관계를 알기위하여 NAC를 각각 0, 10, 25, 50, 100, 200 mg/kg씩 ADM을 투여하기 12시간 전에 경구투여하였다. 다음 ADM 5 mg/kg을 복강투여한 후 36시간이 지난 후에 도살하여 소핵시험을 실시한 결과, Table II와 같이 10, 25, 50 mg/kg에서 각각 27, 36, 29%의 소핵생성 억제효과를 보였으며, 100 mg/kg에서는 39%($p < 0.05$)의 유의성있는 억제효과가 나타났다.

SH기 함유화합물의 소핵생성 억제효과—NAC과 같은 SH기 함유 화합물들의 반복투여로 인한 소핵생성억제효과를 검정하기 위하여, NAC, cysteine, cystine, SCMC, GSH를 ADM투여 5일 전부터 계속 10, 25, 50 mg/kg의 농도로 1일 1회 경구 투여 24시간

Table I—Inhibitory effect of adriamycin-induced MNPCEs by 1000 mg/kg body weight of N-acetylcysteine administered at various time before adriamycin Injection

Time of NAC treatment (h)	MNPCE %			Mean ± S.D.	Suppression ^b (%)
	Individual value				
Positive control ^a	1.1	1.4	1.6	1.37 ± 0.21	
-2	1.8	1.3	1.0	1.37 ± 0.33	0
-6	1.4	1.1	1.1	1.20 ± 0.14	12
-12	1.1	1.1	1.2	1.13 ± 0.05	18
-18	1.3	1.1	1.0	1.13 ± 0.12	18
-24	1.0	1.0	1.3	1.10 ± 0.14	20
-30	1.5	1.4	1.0	1.30 ± 0.22	5
-36	1.1	1.6	1.4	1.37 ± 0.21	0
-48	1.4	1.5	1.1	1.33 ± 0.17	3

^a Adriamycin 5 mg/kg, i.p.

^b % Suppression = 100 - (MNPCE % in the presence of NAC / MNPCE % in the absence of NAC) × 100.

Table II—Suppression of adriamycin-induced MNPCEs by N-acetylcysteine in bone-marrow cells in mice

Dose (NAC, p.o. + ADM, i.p.)	MNPCE %			Mean ± S.D.	Suppression ^c (%)
	Individual value				
Negative control ^a	0.2	0.2	0.1	0.17 ± 0.06	
Positive control ^b	1.1	1.4	1.6	1.37 ± 0.21	
NAC + ADM 10 mg/kg + 5 mg/kg	1.2	0.9	0.9	1.00 ± 0.14	27
25 mg/kg + 5 mg/kg	0.9	0.6	1.1	0.87 ± 0.21	36
50 mg/kg + 5 mg/kg	0.9	0.7	1.3	0.97 ± 0.25	29
100 mg/kg + 5 mg/kg	1.0	0.6	0.9	0.83 ± 0.17*	39
200 mg/kg + 5 mg/kg	1.2	1.0	1.7	1.30 ± 0.29	5

^a Tap water 0.1 ml, p.o.

^b Adriamycin 5 mg/kg, i.p.

^c % Suppression = 100 - (MNPCE % in the presence of NAC / MNPCE % in the absence of NAC) × 100.

* $p < 0.05$: significant compared to positive control.

Table III—Suppression of adriamycin-induced MNPCEs by 5 consecutive days treatment of sulfhydryl compounds

Dose (Test compound, p.o. + ADM, i.p.)		MNPCE % Individual value			Mean ± S.D.	Suppression ^d (%)
Negative control ^a		0.2	0.2	0.1	0.17 ± 0.06	
Negative control ^b		0.3	0.2	0.3	0.27 ± 0.05	
Positive control ^c		1.1	1.4	1.6	1.37 ± 0.21	
NAC + ADM	10 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	0.7	0.5	0.8	0.67 ± 0.12*	51
	25 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	0.7	0.8	1.0	0.83 ± 0.12*	39
	50 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.4	1.2	1.6	1.40 ± 0.16	-2
Cysteine + ADM	10 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	0.9	1.1	0.8	0.93 ± 0.12	32
	25 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	0.6	0.9	1.4	0.97 ± 0.33	29
	50 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.3	1.1	0.5	0.97 ± 0.34	29
Cystine + ADM	10 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.2	1.4	1.1	1.23 ± 0.12	10
	25 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.2	1.7	1.1	1.33 ± 0.26	3
	50 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.2	1.8	1.6	1.53 ± 0.25	-12
SCMC + ADM	10 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.3	1.2	0.7	1.07 ± 0.26	22
	25 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.3	1.4	1.4	1.37 ± 0.05	0
	50 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.0	1.1	1.3	1.13 ± 0.12	18
GSH + ADM	10 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.0	1.5	1.0	1.17 ± 0.24	15
	25 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	0.3	0.2	0.5	0.33 ± 0.12**	76
	50 mg/kg, 5 days + 5 mg/kg	1.0	1.4	1.2	1.20 ± 0.16	12

^a Tap water 0.1 ml, p.o.

^b 1% olive oil 0.1 ml, p.o.

^c Adriamycin 5 mg/kg, i.p.

^d % Suppression = 100 - (MNPCE % in the presence of SH compound / MNPCE % in the absence of SH compound) × 100.

* p < 0.05 : significant compared to positive control.

** p < 0.01 : significant compared to positive control.

후 ADM 5 mg/kg을 복강내 투여하고 36시간 후에 소핵시험을 실시하였다. Table III에서 보는 바와 같이 NAC 10, 25 mg/kg 투여군에서 51% (p < 0.05), 39% (p < 0.05)의 유의성있는 소핵생성 억제효과를 나타내었다. 이같은 결과는 1회 투여시 100 mg/kg에서 유의성있는 억제효과를 나타내었음에 비하여, 5일간 연용투여시에는 낮은 용량인 10 mg/kg, 25 mg/kg 투여시에 유의성있는 억제효과를 나타내고 있음을 보여 주었다. 그러나, cysteine, cystine 및 SCMC는 유의성있는 억제효과를 나타내주지 못했고, GSH는 10 mg/kg에서는 억제효과가 낮았으나 25 mg/kg에서 76% (p < 0.01)의 유의성있는 억제효과가 나타났고, 50 mg/kg에서는 억제효과가 없어졌다.

고 찰

악성종양을 치료하기위하여 항암제를 화학요법제로 사용할 때 이들 항암제는 종양세포에만 선택적으로 작용하지 않고 정상세포에 대한 세포독성과 함께 항암제 자신이 변이원으로 작용할 가능성이 크다. 따라서 이러한 세포독성과 2차암 유발 등의 부작용을 감소시키면서 종양세포에서의 항암효과를 떨어뜨리지 않는 약물요법이 계속 연구되고 있다.

Doroshov 등,²⁴⁾ Freeman 등,²⁵⁾ Berend²⁶⁾가 ADM의 항암 효과에 대한 sulfhydry기 함유 화합물의 영향을 조사한 결과, NAC는 ADM으로 인해 고갈되는 GSH에 sulfhydry기를 공급하여 독성을 억제시키나, ADM의 항암효과에는 전혀 영향을 미치지 않는다고

보고한 바 있다. 이에 본 연구에서는 SH기를 함유하는 화합물로 NAC를 비롯한 cysteine, cystine, SCMC, GSH를 ADM과 병용투여함으로써 ADM에 의한 정상세포에 대한 유전독성을 억제시킬 수 있는가를 연구하였다.

NAC의 유전독성을 평가한 실험에서, *Salmonella typhimurium*을 이용한 Ames test를 한 결과 hepatic microsome을 넣은 경우와 안넣은 경우 모두에서 변이원성을 나타내지 않았음이 보고되었고, 지속적인 경구투여로 인한 아급성, 만성 독성시험에서도 안전성이 보고되었다.³⁴⁾ 현재 NAC는 미국 국립암연구소의 Chemoprevention Branch에서 암예방제에 대한 phase I 임상시험에 들어가있으며,³⁵⁾ 오래전부터 이 약물은 점액용해제 (mucolytic drug)와 만성기관지질환 치료제로 사용되고 있기 때문에 안전성이 잘 알려진 물질이다. 본 실험에서도 NAC 100 mg/kg을 투여한 후 0, 6, 12, 24, 36, 48시간 경과별로 골수소핵시험을 한 결과, 용매대조군과 비교하여 볼 때 낮은 소핵생성빈도를 나타내었으며, 따라서 NAC 자체로는 소핵생성을 증가시키지 않는다고 판단되었다. 한편, NAC를 100 mg/kg를 경구투여하고 ADM을 복강주사 후 0, 2, 12, 24, 36, 72시간 후 소핵생성빈도를 ADM 5 mg/kg 단독투여군과 비교할 때 전 시간에 걸쳐 NAC와 ADM 단독투여 군에서 낮은 소핵생성빈도를 나타내는 한편, ADM 단독 투여군에서와 마찬가지로 NAC와 ADM 병용투여군에서도 ADM투여 후 36시간에서 가장 높은 소핵생성빈도를 나타내는 것으로 보아 NAC 투여에 의하여 ADM의 소핵생성을 지체시키는 효과(delay effect)는 나타나지 않는 것으로 판단되었다.

한편, NAC의 투여용량 증가에 따른 ADM의 소핵생성에 미치는 효과를 알기위해 NAC를 0, 10, 25, 100, 200 mg/kg의 용량으로 ADM과 병용투여한 경우에는 시험한 모든 용량에서 억제효과를 나타내었으며, 특히 100 mg/kg에서 유의성있는 억제효과($P < 0.05$)를 보여주었다. 그러나 200 mg/kg의 고용량에서는 오히려 소핵생성 억제효과가 거의 나타나지 않았다.

또한, NAC의 연속투여에 따른 ADM의 소핵생성에 미치는 효과를 알기 위하여 10, 25, 50 mg/kg의 용량으로 NAC, cysteine, cystine, SCMC, GSH를 5일간 연속 경구투여한 후 ADM을 복강내 투여한 결과

NAC의 10 mg/kg ($p < 0.05$), 25 mg/kg ($p < 0.05$) 투여군에서 유의성있는 억제효과를 나타내었다. 1회 투여 시에는 NAC 100 mg/kg투여군에서 유의성있는 억제효과를 나타내었음에 비하여 5일간 연용투여시에는 이보다 낮은 용량에서 억제효과를 나타내고 있음을 보여주었다. 그러나 cysteine, cystine, SCMC에서는 다소의 억제효과가 나타났으나 유의성은 없었다. NAC와 GSH의 경우 50 mg/kg투여군은 10, 25 mg/kg 투여군보다 오히려 억제효과가 감소하고 있는 것으로 보아 1회 투여시나 연용투여시 투여용량이 너무 클 경우에는 오히려 억제효과가 감소하고 있음이 나타났다.

NAC는 *in vivo*에서 GSH의 세포내 농도를 증가시킨다고 알려져 있으며, 이같은 간접작용에 의해 생쥐에서 urethane-induced lung tumor를 억제한다고 보고된 바 있다.³⁶⁾ GSH는 세포내 독성대사물질들에 대한 포함으로 해독기전에 작용하고있으며, 간세포내의 GSH가 고갈되면 발암물질의 DNA 공격이 용이해져서 MNNG나 N-methylnitrosourea와 같은 물질에 노출된 경우에 간 DNA에서의 strand breaks가 쉽게 일어나며 NAC나 mercaptopropionyl glycine 등이 MNNG 투여전에 예방적으로 투여되는 경우에 이러한 strand breaks가 거의 완전히 억제되었다는 보고가 있다.³⁷⁾ 아직까지 SH화합물들의 유전독성 억제작용의 기전은 명확하지 않지만, De Flora의 여러 연구^{28,36,38-40)}를 통해서 NAC는 antimutagenic 또는 anticarcinogenic 물질로 잘 알려져있으며, 이러한 유전독성억제기전은 NAC의 친핵성(nucleophilicity), 항산화성(antioxidant activity), 세포내 GSH의 전구체로서의 작용과 DNA repair modulator작용 등이 제시되고 있다. ADM의 경우 superoxide와 같은 강력한 free radical을 생성시켜 DNA 손상을 일으키고 있기 때문에 NAC와 같은 물질의 유전독성억제효과는 DNA repair 조절작용이나 GSH 생성촉진작용 등을 배제할 수 없지만, free radical들의 scavenging effect로서의 가능성이 있다고 보여진다. 따라서 NAC는 저용량의 연용투여에서의 억제효과와 함께 작용기전의 연구가 필요한 물질이라고 판단된다.

결 론

Adriamycin의 유전독성에 미치는 N-acetylcys-

teine의 효과를 검정하기 위하여 생쥐를 이용한 골수세포시험을 실시하였다. N-acetylcysteine을 0, 10, 25, 50, 100, 200 mg/kg을 각각 경구투여하고 12시간 후 adriamycin 5 mg/kg을 복강투여하고 36시간 후 도살하여 골수세포중 소핵을 가진 다염성적혈구의 빈도를 관찰한 결과, 대부분의 용량에서 adriamycin 단독투여군 보다 낮은 소핵생성빈도를 나타내었으며, 100 mg/kg 투여군에서 가장 높은 39%의 억제효과를 나타내었다. 또한, N-acetylcysteine을 비롯한 cysteine, cystine, S-carboxymethylcysteine, glutathione을 각각 5일간 10, 25, 50 mg/kg을 경구투여하고 24시간 후 adriamycin 5 mg/kg을 복강투여하였을 때에는 N-acetyl cysteine 10, 25 mg/kg 투여군과 glutathione 25 mg/kg 투여군에서 유의성있는 억제효과가 나타났다. 이같은 결과는 N-acetylcysteine이 adriamycin의 골수세포에 대한 염색체 손상을 억제시키고 있으며, 특히 adriamycin을 생성시키는 발암물질들의 유전독성 억제제로서의 가능성을 가지고 있다고 판단된다.

문 헌

- 1) Benjamin, R. S., Wiernid, P. H. and Bachur, N. R.: Adriamycin chemotherapy. Efficacy, safety, and pharmacologic basis of an intermittent single high dose schedule. *Cancer* 33, 19-27 (1974).
- 2) Carter, S. K.: Adriamycin-A Review. *Journal of the National Cancer Institute* 55(6), 1265-1274 (1975).
- 3) Arcamone, F., Cassinelli, G. and Franceschi, G.: Structure and physicochemical properties of adriamycin. *International Symposium on Adriamycin*, 9-22 (1972).
- 4) Blum, R. H. and Carter, S. K.: Adriamycin-A new anticancer drug with significant clinical activity. *Ann. Intern. Med.* 80, 249-259 (1974).
- 5) Blacklock, H. A., Matthews, J. G., Buchanan, P. A. and Hill, R. H.: Improved survival from acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults. *Cancer* 48, 1931-1935 (1981).
- 6) Double, T. E. and Brown, T. R.: The interaction of aminoalkylamino anthraquinones with deoxyribonucleic acid. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 27, 502-507 (1974).
- 7) Tatsumi, K., Nakamura, T. and Waskisaka, G.: Comparative effect of daunomycin and adriamycin on nucleic acid metabolism in leukemic cells *in vitro*. *Gann.* 65, 237-247 (1974).
- 8) Kim, H. C., Song, K. Y., Jeon, K. S. and Huh, I. H.: Effect of L-carnitine on the cardio-toxicity induced by doxorubicin. *Yakhak Hoeji* 32(4), 230-233 (1988).
- 9) Dimarco, A. and Arcamone, F.: DNA complexing antibiotics: daunomycin, adriamycin, and their derivatives. *Arzneim-Forsch* 25, 368-375 (1975).
- 10) Momparler, R. L., Karon, M., Siegel, S. E. and Avila, F.: Effect of adriamycin on DNA, RNA, and protein synthesis in cell-free systems and intact cells. *Cancer Research* 36, 2891-2895 (1975).
- 11) Handa, K. and Sato, S.: Generation of free radicals of quinone containing anticancer chemicals in NADPH-microsome system as evidenced by initiation of sulfate oxidation. *Japan J. Cancer Res.* 66, 43-47 (1975).
- 12) Meyers, C. E., Mcquire, W. P. and Liss, R. H.: Adriamycin: The role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science* 197, 165-167 (1977).
- 13) Goodman, J. and Hochstein, P.: Generation of free radicals and lipid peroxidation by redox cycling of adriamycin and daunomycin. *Biochemical and Biophysical Research Comm.* 77(2), 797-803 (1977).
- 14) Doroshov, J. H. and Reeves, J.: Daunorubicin-stimulated reactive oxygen metabolism in cardiac sarcoemes. *Biochem. Pharmacol.* 30, 259-262 (1980).
- 15) Harris, C. C.: The carcinogenicity of anticancer drugs: a hazard in man. *Cancer* 37, 1014-1023 (1976).
- 16) Hollstein, M. J. and McCann, F. A.: Short term test for carcinogens and mutagens. *Mut. Res.* 65, 133-226 (1979).
- 17) Suter, W., Brennand, J., Mcmillan, S. and Fox, M.: Relative mutagenicity of anti-neoplastic drugs and other alkylating agents in V79 Chinese hamster cells, Independence of cytotoxic and mutagenic responses. *Mut. Res.* 73, 171-181 (1980).
- 18) Dickins, D., Wright, K., Phillops, M and Todd, N.: Toxicity and mutagenicity of 6 anticancer drugs in chinese hamster V79 cells co-cultured with rat

- hepatocytes. *Mut. Res.* **157**, 189-197 (1985).
- 19) Moore, M. M., Brock, K. H., Doerr, C. L. and Demarini, D. M.: Mutagenicity and clastogenicity of adriamycin in L5178 Y/TK⁺ -3,7,2C mouse lymphoma cells. *Mut. Res.* **191**, 183-188 (1987).
 - 20) Clements, J., Phillips, M. and Todd, N.: Mutagenicity of adriamycin in *Drosophila melanogaster*. *Mut. Res.* **135**, 175-179 (1984).
 - 21) Clements, J. and Vogel, E. W.: Somatic recombination and mutation assays in *Drosophila*: A comparison of the response of two different strains to four mutagens. *Mut. Res.* **29**, 1-5 (1988).
 - 22) Seino, Y., Nagro, M., Yahagi, T., Hoshi, A. and Sugimura, T.: Mutagenicity of several classes of anti-tumor agents to *Salmonella typhimurium* TA98, TA 100 and TA92. *Cancer Res.* **38**, 2148-2156 (1978).
 - 23) Larramendy, M. L., Dulout, F. N., Bianchi, N. O. and Olivero, O. A.: *In vivo* dose response relationship in bone marrow cells of mice treated with adriamycin. *Mut. Res.* **79**, 133-140 (1980).
 - 24) Doroshow, J. H., Locker, G. Y., Ifrim, I. and Meyers, C. E.: Prevention of doxorubicin cardiac toxicity in the mouse by N-acetylcysteine. *J. Clin. Invest.* **68**, 1053-1064 (1981).
 - 25) Freeman, R. W., Macdonald, J. S., Olson, R. D., Boerth, R. C., Oates, J. A. and Harbison, R. D.: Effect of Sulfhydryl-containing compounds on the antitumor effect of Adriamycin. *Toxi. Appl. Pharmacol.* **54**, 168-175 (1980).
 - 26) Berend, B.: Inhibition of bleomycin lung toxicity by N-Acetyl cysteine in the rat. *Pathology* **17**, 108-110 (1985).
 - 27) Wilpart, M., Mainguet, P., Geeroms, D. and Roberfroid, M.: Desmutagenic effects of N-acetylcysteine on direct and indirect mutagens. *Mut. Res.* **142**, 169-177 (1985).
 - 28) De Flora, S., Bemicelli, C., Zamacchi, P., Camoirano, A., Morelli, A. and De Fora, A.: In vitro effects of N-acetylcysteine on the mutagenicity of direct-acting compounds and procarcinogens. *Carcinogenesis* **5**, 505-510 (1984).
 - 29) Rosin, M. P. and Stich, H. F.: Assesent of the use of the Salmonella mutagenesis assay to determine the influence of antioxidants on carcinogen-induced mutagenesis. *Int. J. Cancer* **23**, 722-727 (1979).
 - 30) Bhattacharya, R. K., Firpi, P. F. and Aboobaker, V. S.: Factors modulating the formation of DNA adduct by aflatoxin B₁ in vitro. *Carcinogenesis* **5**, 1359-1362 (1984).
 - 31) Recio, L. and Hsie, A. W.: Modulation of the cytotoxicity and mutagenicity of benzo(a)pyrene and benzo(a)pyrene 7,8-diol by glutathione and glutathion-S-transferases in mammalian cells(CHO/HG-PRT assay). *Mut. Res.* **178**, 257-269 (1987).
 - 32) Kensler, T. W., Egner, P. A., Trush, M. A. Bueding, E. and Groopman, J. P.: Modification of aflatoxin B₁ binding to DNA in vivo in rats fed phenolic antioxidants, ethoxyquine and dithiothione. *Carcinogenesis* **6**, 759-763 (1985).
 - 33) Schmid, W.: The micronucleus test. *Mut. Res.* **31**, -15 (1975).
 - 34) Bonanomi, L. and Gazzaniga, A.: Toxicological, pharmacokinetic and metabolic studies on Acetylcysteine. *Eur. J. Respir. Dis.* **61**(111), 45-51 (1980).
 - 35) Kelloff, G. J., Boone, C. W. Malone, W. F. and Steele, V. E.: Chemoprevention clinical trials. *Mut. Res.* **267**, 291-295 (1992).
 - 36) De Flora, S., Astengo, M. Serra, D. and Benniselli, C.: Inhibition of urethane-induced lung tumors in mice by dietary N-acetylcysteine. *Cancer Lett.* **32**, 235-241 (1986).
 - 37) Chan, Y. H., Stout, D. L. and Becker, F. F.: *Carcinogenesis* **7**, 1621-1624 (1986).
 - 38) De Flora, S., Benniselli, C., Camoirano, A., Serra, D., Romano, G. A., Rossi, G. A., Morelli, A. and De Flora A.: In vivo effects of N-acetylcysteine on glutathione metabolism and on the biotransformation of carcinogenic and/or mutagenic compounds. *Carcinogenesis* **6**, 1735-1745 (1985).
 - 39) De Flora, S., Romano, M. Basso, C., Bagnasco, M., Cesarone, C. F., Rossi, G. A. and Morelli, A.: Detoxifying activities in alveolar macrophages of rats treated with acetylcysteine, diethylmaleate and/or Aroclor. *Anticancer Res.* **6**, 1009-1012 (1986).
 - 40) De Flora, S., D'Agostini, F., Izzotti, A. and Balasky, R.: Prevention by N-acetylcysteine of benzo(a)pyrene clastogenicity and DNA adducts in rats. *Mut. Res.* **250**, 87-93 (1991).