

색소성 건피증 세포 F, G군의 자외선 조사 후 RNA 합성 회복에 관한 연구

장 해 룡

동국대학교 자연과학대학 자연과학부 생물학과

Recovery of RNA Synthesis After Ultraviolet Irradiation of Xeroderma Pigmentosum Group F and G

Hae Ryong Chang

Department of Biology, College of Natural Sciences Dongguk University,
Kyongju 780-714, Korea

(Received December 18, 1998)

(Accepted January 20, 1999)

ABSTRACT : RNA synthesis rate was measured at different time points after UV irradiation in various xeroderma pigmentosum (XP) cells including complementation groups F and G. The RNA synthesis was assayed by measuring ³H-uridine incorporation. In normal cells, recovery of RNA synthesis was initiated at about 6 hr after UV irradiation and reached to the same level as in unirradiated cells at 24 hr after UV irradiation. By contrast, no such recovery was observed in group F, G XP cells.

Key Words : Xeroderma Pigmentosum, RNA Synthesis, Repair.

I. 서 론

색소성 건피증(Xeroderma pigmentosum; XP)은 상염색체 성의 열성 유전병으로 안면 등의 태양 광선이 닿는 부위의 피부에 색소 침착, 각질화 등이 일어나고 뒤에 이 부위에 고빈도의 피부암이 발생한다(Cleaver *et al.*, 1975; Robbins *et al.*, 1974). Cleaver(1968)는 XP 환자의 세포는 자외선(UV) 조사로 만들어지는 pyrimidine dimer를 제거 수복하는 능력이 없는 것을 발표하였으며, de Weerd-Kastelein 등(1972)은 XP의 분자적 결함이 다양하다는 사실을 증명하였다. 또한 Park 등(1979)은 XP 세포가 Caffeine에 의해 DNA 합성 회복을 저해함을 보였다. XP 세포의 Complementation Group(상보성군)은 A군에서 H군까지 8군이 알려져 있고, 이러한 유전적 상보성군은 세포융합법을 이용하여 UV조사 후 Autoradiography를 통한 grain의 수를 분석하여 밝혀져 왔다(Kraemer *et al.*, 1985; Fischer *et al.*, 1985; Bootsma *et al.*, 1989). 장(1994a, 1994b)은 RNA 합성 회복을 이용하여 세포 융합 한 후 자외선 조사로 상보성군 분석을 시도하였다.

XP 세포의 자외선 조사 후의 생존율 조사에서 XP A군은 감수성이 가장 민감한 것으로 널리 알려져 있

고, D, E군과 F군 또한 감수성이 예민한 것으로 보고되고 있다(Kraemer *et al.*, 1985; Sato *et al.*, 1987; Fujiwara *et al.*, 1985). DNA손상 회복은 정상 세포에 대한 비가 A군, D군 세포에서 각각 1.1%, 51%를 보여주고 있고(Chang *et al.*, 1989), E군 세포는 40~60%를(Kondo *et al.*, 1988), F군 세포는 10~15%를(Nishigori *et al.*, 1986) 나타내고 있다.

장(1994a, 1994b)이 조사한 자외선 조사 후 보이는 XP A, D, E군의 RNA 합성 회복이 시간의 경과에 따라 감소되는 경향은 XP 세포는 DNA 회복 능력에 결함이 있고, 이로인해 RNA 합성에 미치는 영향이 있음을 시사하고 있다.

본 실험에서 상보성군 중 F, G군 세포의 DNA 손상 회복에 대한 자외선 조사 후 시간의 경과에 따른 RNA 합성의 회복 정도를 보고함으로써 색소성건피증 세포의 RNA 합성을 변화를 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료 및 배양 조건

본 실험에 사용한 세포는 XP 상보성군이 알려진 것

Table 1. Cellular Characteristics of XP and Normal Strains Used in This study

Cell strain	Complementation Group	UV killing Do(J/m ²)	Reference ^a
XP cells			
XP3OS	A	0.40	Takebe <i>et al.</i>
XP35OS	D	0.37	Sato <i>et al.</i>
GM5424	D	0.32	Cleaver <i>et al.</i>
XP59TO	E	-	Fujiwara <i>et al.</i>
XP24KO	F	-	Fujiwara <i>et al.</i>
XP101OS	F	2.1	Niahigori <i>et al.</i>
XP2BI	G	2.1	This paper
Normal cells			
N17OS		3.9	Sato <i>et al.</i>

a. Reference for complementation group assignment of XP strains, For normal cells, these refer to original descriptions. Do values listed in this Table were determined by the present authors.
 XP : xeroderma pigmentosum; UV : ultraviolet.

으로 A군 : XP3OS XP35OS, D군 : GM5424 XP59TO, E군 : XP24KO, F군 : XP101OS 세포, G군 : XP2BI와 정상 세포 : N17OS을 이용하였다(Table 1). 모든 세포는 Dulbecco's modified minimum essential medium (DMEM)에 10% fetal calf serum(Hyclone Lab., Logan, UT)과 antibiotics를 사용하였다(Sato *et al.*, 1987; Chang, 1994). 배양 조건은 10% 탄산가스 하에 37°C를 유지하였다.

2. 자외선 조사 후의 생존율 조사

필요한 수의 세포를 6cm dish에 14-16시간 배양한 후 phosphate-buffered saline(PBS)에 한번 세척하여 자외선을 조사했다. 이때 조사량은 0.05, 0.3, 혹은 1.2 J/m²s 이었다. 조사 후 매주 2번의 배양액을 교환하며 약 2주간 배양하고 colony를 염색하여 생존율을 조사하였다(Chang *et al.*, 1989). Plating efficiency는 자외선 미조사군에서 8%~30%였다.

3. 자외선 조사 후의 RNA 합성 회복

대수 증식기에 있는 세포를 자외선 조사군(+UV)과 자외선 미조사군(-UV)으로 나누어 지름 3 cm glass dish당 2.0×10^5 cells을 24시간 배양하고, 자외선을 20 J/m² 조사하여 시간의 경과에 따라 ³H Uridine을 dish 당 1.5 Ci/ml 넣고 배양하였다. 1시간 배양 후 Filtration에 의해 TCA 불용성인 RNA를 filter에 모아 Liquid Scintillation counter에서 측정하였다.

RNA 합성율은 각 시간에 나타나는 ³H-cmp을 +UV/-UV로 환산해서 구하였다.

III. 결과 및 고찰

자외선 조사 후 나타나는 생존율 결과는 Fig. 1에서 보여주는 바와 같다. 자외선에 대한 생존율이 정상세포(N17OS)는 12 J/m²에서 8.6%로 나타나고, XP 세포 A(XP3OS, XP35OS), D(GM5424)군이 2 J/m²에서 1% 이하로 가장 민감한 반응을 보였다. 또한 XP세포 F(XP101OS), G(XP2BI)군의 경우 자외선을 10 J/m² 조사시 1%, 0.3% 생존하였다. 자외선에 의한 생존율의 척도라 할 수 있는 Do 값을 보면 XP 세포 A(XP3OS, XP35OS), D(GM5424)군이 제일 낮은 수치가 나타났다. 또한 XP 세포 F(XP101OS), G(XP2BI)군이 비슷한 수치를 나타 내었고, 정상세포(N17OS)군은 3.9로 제일 높은 값이었다(Table 1).

정상 세포군의 N17OS에서는 자외선 조사 후 6시간 까지 RNA 합성율이 거의 변화가 일어나지 않았고, 6시간 경과 후에 RNA 합성율이 회복되어져서 24시간

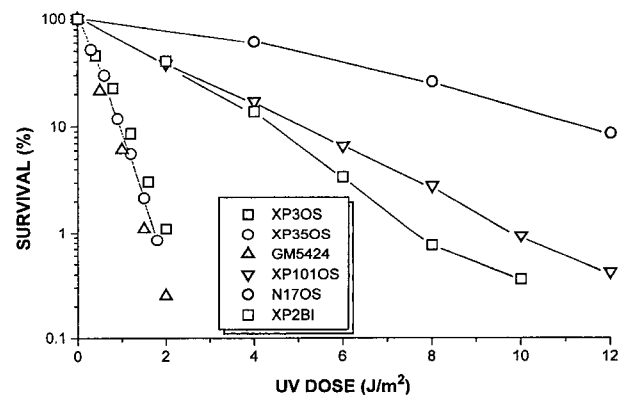


Fig. 1. UV survival curves of XP reference strains and normal cells. Each symbol denotes the geometrical mean of two to four independent experiments.

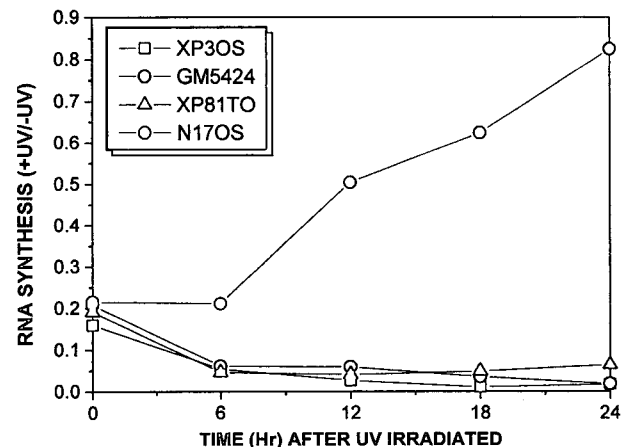


Fig. 2. The recovery of RNA synthesis in normal and XP cells during post-UV incubation.

경과 후에는 거의 정상에 가까운 회복을 보였다. 반면 색소성 건피증의 A군에 속하는 XP3OS에서는 자외선 조사 후 시간의 경과에 따라 RNA 합성율이 계속적인 감소 추세를 나타내었다(Fig. 2). 또한 색소성 건피증 D군에 속하는 GM5424세포에서는 RNA 합성율이 자외선 조사 후 6시간까지 급격히 감소하고, 24시간까지 아주 작은 감소가 계속적으로 일어났다.

E군에 속하는 XP81TO 세포의 RNA 합성율은 자외선 조사 후 6시간 경과까지는 RNA 합성율이 급격히 저하되고, 6시간 후에는 머무르는 경향으로 나타났다. 또한 자외선 조사 후 RNA 합성율이 24시간까지의 결과를 볼 때 A군과 D군의 감소는 유사성이 보이지만 E군은 감소가 덜한 경향을 나타내었다(Fig. 2). Figure 3에서 색소성 건피증 G(XP2BI)군에서도 A D E군과 같이 자외선 조사 후 24시간 까지 계속 감소하였고, XP F(XP101OS)군에서는 자외선 조사 후 12시간까지 감소를 하고 이후는 조금 증가하는 추세를 나타 내었다.

이는 DNA 회복 능력과 자외선에 대한 생존율에서 나타나는 감수성이 그대로 반영되어 지고 있다고 볼 수 있다(Kraemer *et al.*, 1985; Fischer *et al.*, 1985; Bootsma *et al.*, 1989). 또한 Johnson 등(1989)은 XP D 군 세포에서 DNA 합성 회복이 자외선 조사후 6시간까지 감소한다고 보고하고 있다. 장(1994a)이 시사한 색소성 건피증 D군에서 나타나는 RNA 합성 회복 경향과 일치했다.

이상의 연구 결과에서 XP 각 세포군에서 나타나는 RNA 합성 회복의 경향이 DNA 손상 회복과 자외선에 대한 생존율에서 보여지는 차이점에 뚜렷한 특성을 보여주지는 못하고 있지만, 자외선에 대한 DNA 손상 회복에 저해되는 영향이 RNA 합성 회복에서도 사실이 입증되어 지고 있다. 물론 자외선 조사후 24시간 이상

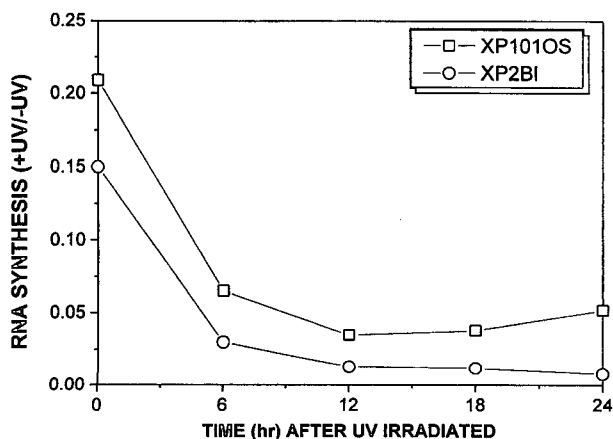


Fig. 3. The recovery of RNA synthesis in XP cells during post-UV incubation.

경과 후의 RNA 합성 회복 정도를 조사해 볼 필요성도 요구되지만, 상보성군 내의 세포들 사이에서 나타나는 회복 능력들의 차이도 있다고 사료된다.

XP 세포의 다른 상보성군에 속하는 H군도 RNA 합성이 본 실험과 같은 경향을 보여주고 있고, 특히 C군 세포는 6시간 경과 후 24시간까지 정상 세포와 비슷한 회복을 하는 특성이 있다(미발표). 이에 대한 연구는 자외선 조사 후 회복 되는 시간의 변화를 더 많이 줄여서 나타나는 회복능력을 조사할 필요성이 있다고 본다.

한국인의 색소성 건피증 환자의 세포를 이용한 연구는 Park 등에 의해 XP1SE가 상보성군이 C군에 속한다는 예가 발표된 정도이다(Park *et al.*, 1982). XP 세포에 대한 RNA 합성 연구가 보고되므로 해서 유전적 연구의 빠른 발전이 기대된다(Chang, 1994a, b).

감사의 말씀

본 연구를 위해 도움을 주신 경도 대학 방사선 생물 연구 Center의 M. Ikenaga 교수님과 연구실원들께 진심으로 감사를 드립니다.

참고문헌

- Bootsma D., Keijzer, W., Jung, E.G. and Bohnert, E. (1989): Xeroderma pigmentosum complementation group XP-I withdrawn. *Mutat Res* **218**, 149-151.
- Chang H.R., Ishizaki, K., Sasaki, M.S., Toguchida, J., Kato, M., Nakamura, Y., Kawamura, S., Moriguchi, T. and Ikenaga, M. (1989): Somatic mosaicism for DNA repair capacity in fibroblasts derived from a group A xeroderma pigmentosum patient. *J. Invest Dermat*, **93**, 460-465.
- Chang H.R. (1994a): Recovery of RNA synthesis after ultraviolet irradiation of xeroderma pigmentosum group A, D, E. *Environmental Mutagens & Carcinogens* **14**(1), 8-12.
- Chang H.R. (1994b): Complementation group of xeroderma pigmentosum measured by RNA synthesis. *Korean J. Toxicol.* **10**(1), 73-79.
- Cleaver J.E. (1968): Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature (London)*, **218**, 652-656.
- Cleaver J.E. and Bootsma, D. (1975): Xeroderma pigmentosum: Biochemical and genetic characteristics. *Annu. Rev. Genet.*, **9**, 19-38.
- Cleaver J.E. (1982): Rapid complementation method for classifying excision repair-defective xeroderma pigmentosum cell strains. *Somatic Cell Genet* **8**,

- 801-810.
- de Weerd-Kastelien E.A., Keijzer, W. and Bootsma, D. (1972): Genetic heterogeneity of xeroderma pigmentosum demonstrated by somatic cell hybridization. *Nature (London) New Biol* **238**, 80-83.
- Fischer E., Keijzer, W., Thielmann, H.W., Popanda, O., Bohnert, E., Edler, L., Jung, E.G. and Bootsma, D. (1985): A ninth complementation group in xeroderma pigmentosum, XPI. *Mutat. Res.*, **145**, 217-225.
- Fujiwara Y. and Satoh, Y. (1985): Assignment of two Japanese xeroderma pigmentosum patients to complementation group D and their characteristics. *Jpn. J. Cancer. Res. (Gann)* **76**, 162-166.
- Fujiwara Y., Uehara, Y., Ichihashi, M., Yamamoto, Y. and Nishioka, K. (1985): Assignment of 2 patients with xeroderma pigmentosum to complementation group E. *Mutat. Res.*, **145**, 55-61.
- Ikenaga M., Midorikawa, M., Abe, J. and Mimaki, T. (1983): The sensitivities to radiations and radiomimetic chemicals of cells from patients with ataxia telangiectasia. *Jpn. J. Hum. Genet.*, **28**, 1-10.
- Johnson R.T., Elliott, G.C., Squires, S. and Joysey, V. C. (1989): Lack of complementation between xeroderma pigmentosum complementation groups D and H. *Hum. Genet.*, **81**, 203-210.
- Kondo S., Fukuro, S., Mamada, A., Kawada, A., Satoh, Y. and Fujiwara, Y. (1988): Assignment of three patients with xeroderma pigmentosum to complementation group E and their characteristics. *J. Invest. Dermatol.*, **90**, 152-157.
- Kraemer K.H., Coon, H.G., Petinga, R.A., Barrett, S. F., Rahe, A.E. and Robbins, J.H. (1975): Genetic heterogeneity in Xeroderma pigmentosum : Complementation groups and their relationship to DNA repair rates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 59-63.
- Kraemer K.H. and Slor, H. (1985): Xeroderma pigmentosum. *Clin Dermatol* **3**, 33-69.
- Nishigori C., Ishizaki, K., Takebe, H., Imamura, S. and Hayakawa, M. (1986): A case of xeroderma pigmentosum group F with late onset of clinical symptoms. *Arch Dermatol* **122**, 510-511.
- Park S.D. and Cleaver, J.E. (1979): Recovery of DNA synthesis after ultraviolet irradiation of xeroderma pigmentosum cells depends on excision repair and is blocked by caffeine. *Nucleic. Acids. Res.*, **6**, 1151-1159.
- Park S.D. and Chung, H.Y. (1982): Characterization of a Korean xeroderma pigmentosum cell strain, XP1SE, by somatic cell hybridization and complementation studies. *Korean J. Genet.*, **4**, 69-78.
- Robbins J.H., Kraemer, K.H., Lutzner, M.A., Festoff, B.W. and Coon, H.G. (1974): Xeroderma pigmentosum : An inherited disease with sun sensitivity, multiple cutaneous neoplasms, and abnormal DNA repair. *Ann. Intern. Med.*, **80**, 221-248.
- Sato K., Watatani, M., Ikenaga, M., Kozuka, T., Kitano, Y., Yoshikawa, K., Mimaki, T., Abe, J. and Sugita, T. (1987): Sensitivity to UV radiation of fibroblasts from a Japanese group A xeroderma pigmentosum patient with mild neurological abnormalities. *Br J. Dermatol.*, **116**, 101-108.