

불소화합물의 골육종 및 구강암 세포주에 대한 독성의 비교분석

송 제 선, 이 백 수¹, 김 정 희

경희대학교 치과대학 구강생물학연구소, 구강생화학교실, ¹구강악안면외과학교실

Comparative Analysis of Cytotoxicity of Fluoride Compounds on Oral Cancer and Osteosarcoma Cells

Je-Seon Song, Baek-Soo Lee¹, Jeong Hee Kim

Institute of Oral Biology, Department of Oral Biochemistry,

*¹Department of Oral Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, KyungHee University,
Seoul, 130-701, Korea*

ABSTRACT

Fluorination of drinking water has been used world widely to reduce the incidence of caries. Recently, contradictory results on the cytotoxicity of fluoride compounds are reported. In addition, there are attempts to use fluorosilicate for fluorination of drinking water in Korea, therefore, we tried to analyze the cytotoxicity of fluoride compounds on oral epidermoid carcinoma (KB and A253) and osteosarcoma (HOS and MG-63) cells in this study. We treated cells with 0, 10, 50 and 250 ppm of fluorosilicic acid (domestic or from Fluka, F_6H_2Si), sodium fluorosilicate (F_6Na_2Si), sodium fluoroacetate (FCH_2CO_2Na), sodium fluoride (NaF) or potassium fluoride (KF) and measured the relative cell survival by MTT assay. At the concentration of < 10 ppm, no significant cytotoxicity was observed. At 50 ppm, each cells revealed different response to fluoride treatment. Among cells used in this study, MG-63 was the most resistant to fluoride treatment. Comparable toxicity data from domestic and imported fluorosilicic acids were obtained. When we compared the relative cytotoxicity of fluoride compounds against their fluoride contents, the differences in relative cell survival were smaller. Most of cells showed < 20% of survival at 250 ppm. In order to analyze the pH dependence of the cytotoxicity of fluorosilicates, the pH of cell culture media containing fluorosilicate was adjusted to 7.4 or 6.5 and the relative cytotoxicity was measured. At lower pH, about 10% higher cytotoxicity was obtained. Thus, our data suggested that the toxicity of domestic fluorosilicic acid was similar to that of fluorosilicic acid from Fluka, and the cytotoxicity of fluoride compounds was dependent on the relative content of fluoride and pH.

Key words : Fluorides, oral cancer cells, osteosarcoma cells, cytotoxicity

서 론

불소화합물은 자연환경에 전반적으로 분포되어 있는 물질로서 토양, 해수 및 담수, 음식 속에 자

연적으로 존재할 뿐만 아니라, 구강보건 향상을 위해 음용수에 인위적으로 첨가되는 물질이다. 오래 전부터 자연적으로 불소가 함유된 물을 섭취함으로써 충치를 예방하고 건강한 치아를 유지할 수 있다는 것이 알려져 왔다. 1940년대부터 충치

예방을 위해 구강위생용품과 음용수에 불소화합물이 첨가되어져 왔으며, 보전당국의 권장 불소함량은 대개 1 ppmF이다(Caspary *et al.*, 1987). 실제로 불소함량이 1 ppmF일 경우 충치발생률이 약 40%로 저하됨이 알려져 있다. 불소화합물은 이미 맹출한 치아뿐만 아니라 발생과정 중에 있는 치아에도 작용을 하여 충치의 발생을 저하시키며, 불소 함유 음용수를 계속 섭취하는 경우에만 이 효과가 지속되는 것으로 알려져 있다(Murray *et al.*, 1991). 하지만 이러한 불소화합물이 인체에 어떠한 유전독성을 나타내는지에 대한 생물학적인 기초연구는 미흡한 편이다.

최근 불화소다(NaF)가 Syrian hamster embryo 세포에서 형질전환을 유도한다는 것이 보고되었다(Jones *et al.*, 1988; Tsutsui *et al.*, 1984). 또한 포유동물의 세포에 불소화합물을 가했을 때 chromosomal aberration, 돌연변이 등의 세포독성이 나타남이 보고되었으며(Mihashi and Tsutsui, 1996; Khalil, 1995; Hayashi and Tsutsui, 1993; Cole *et al.*, 1986; Holland, 1980; Jaglileo and Lin, 1974), Chinese hamster ovary cell에서 sister-chromatid exchange 및 micromuclei가 형성됨이 관찰되었다(Aardema *et al.*, 1989). 이러한 결과와는 대조적으로 배양된 인체의 임파구에서는 이러한 염색체손상이 관찰되지 않았으며(Thomson *et al.*, 1985; Gebhart *et al.*, 1984; Kishi and Tonomyra, 1984), 다른 포유동물 세포에서도 DNA 손상에 대한 결과가 유의성 없음을 보였다(Tsutsui *et al.*, 1995; Khalil and Da'dara, 1994; Li *et al.*, 1987a). *In vitro* 연구 결과에서와 마찬가지로 *in vivo* 연구에서도 논란이 되는 결과들이 보고가 되었다. 불소화합물의 세포유전독성을 유발한다는 연구 보고가 있었으나(Pati and Bhunya, 1987; Aliev and Babaev, 1981), 또 다른 연구에서는 이와는 상반되는 연구결과를 보였다(Albanese, 1987; Li *et al.*, 1987b). 따라서 불소화합물이 세포의 유전독성을 일으키는 지의 여부에 대하여서 아직 논란이 많으며, 특히 분자수준에서의 메카니즘은 확실한 연구결과가 없는 실정이다. 최근 국내에서 불화규산(fluorosilicic acid, F_6H_2Si)이 생산되어 충치 예방목적으로 사용 가능성이 검토되고 있다. 따라서, 국내에서 생산되는 불화규산의 안전성에 대한 검토 및 이에 대한 기초 연

구가 필요하며, 또한 안전 사고 등으로 불화규산이 과량으로 상수도에 유입된 예가 외국에서 보고된 사례가 있으므로 이러한 경우에 대비하여 불화규산의 세포독성에 대한 기본 연구가 이루어져야 한다. 하지만 생체 특히 세포 및 분자 수준에서의 불화규산에 대한 기초 연구는 거의 되어 있지 않는 상태이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 생산된 불화규산의 세포독성을 시약으로 판매 중인 불화규산, 그리고 다른 화학적 성상을 가진 sodium fluoride, potassium fluoride 및 sodium fluoroacetate 등의 불소화합물의 세포독성을 골육종 및 구강암 세포주를 대상으로 측정, 비교 분석하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시약

본 연구에는 불화규산(fluorosilicic acid, F_6H_2Si , 남해화학 및 Fluka, Switzerland), 불화규산염(sodium fluorosilicate, F_6Na_2Si , Fluka, Switzerland), 불화소다(sodium fluoride, NaF, Sigma, USA), potassium fluoride (KF, Sigma, USA), 및 sodium fluoroacetate (FCH_2CO_2Na , Aldrich, USA) 등의 불소화합물을 사용하였다. 불화규산염은 PRMI1640 media (GibCo BRL, USA)에, 불화소다, potassium fluoride 및 soduin fluoroacetate는 D-PBS (Dulbecco's phosphate buffered saline, GibCo BRL, USA)에 용해시킨 후 여과멸균하여, 필요시 적절한 세포배양배지에 희석하여 사용하였다. 불화규산은 여과멸균한 후 적절한 세포배양배지에 희석하여 사용하였다. 연구에 사용한 다른 시약은 Sigma, USA 또는 통상의 공급처에서 공급받아 사용하였다.

2. 세포배양

본 연구에 사용한 골육종 세포주는 HOS (human osteogenic sarcoma, ATCC CRL-1543) 및 MG-63 (human osteosarcoma, ATCC CRL-1427)이며, 구강암 세포주는 KB (human oral epidermoid carcinoma, ATCC CCL 17)와 A253 (human sumaxillary gland epidermoid carcinoma, ATCC HTB-41)이다. HOS 및 MG-63 세포주는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지에서, KB 세포주는 10% FBS가 첨가

된 MEM 배지에서 그리고 A253 세포주는 0.04 g/ml의 hydrocortisone 및 10% FBS (Biowhittaker, USA)가 첨가된 RPMI1640 배지에서 배양하였다. 각 배양배지에는 streptomycin/penicillin (GibCo, BRL, USA)과 2 mM L-glutamine을 넣고 37°C에서 5% CO₂/95% air의 조건하에서 배양하였다.

3. 세포독성 측정실험

세포 독성 측정 실험은 MTT 분석법을 이용하였다. 각 세포주를 96 well plate에 심은 후 overnight 동안 배양하고 시료를 가한 후 48시간 동안 배양하였을 때 얻어지는 흡광도가 약 0.7~0.9 정도 되는 적정 세포 수를 결정하였다. 적정 수의 세포를 96 well plate에 심은 후 overnight 배양하고 시료를 가하여 48시간 동안 배양하였다. MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2.5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma, USA)는 PBS에 5 mg/ml로 녹여 0.2 µm filter로 거른 뒤 -20°C에 분주하여 보관하였고 필요시 녹여 사용하였다. MTT를 10 µl를 가하고 4시간 동안 배양 후 각 well의 배양액을 제거하고 형성된 formazan salt를 0.04 N HCl이 함유된 isopropanol 100 µl를 넣고 가볍게 진탕하여 완전히 용해시킨 후, ELISA reader (Biorad, USA)로 570 nm의 파장 (reference: 655 nm)에서 흡광도를 측정하였다.

4. 결과 분석

결과의 분석은 다음과 같이 하였다. 먼저 시료를 처리하지 않은 대조군의 흡광도를 세포의 100% 생존율로 하였다. 세포배양배지에 여러 농도의 불소화합물을 가한 후 상기의 세포배양조건에서 48시간 배양 후의 세포의 생존정도를 세포독성측정실험에 기술한 방법으로 측정하였다. 이때 얻어지는 흡광도를 구하여 불소화합물 처리시의 세포의 생존 정도를 대조군의 생존율에 대한 백분율로 구하였다. 각 실험을 3회 이상 실시하여 그 평균값과 표준 편차를 구하였다.

결 과

본 연구에서는 국내에서 생산되는 불화규산의 세포독성을 세포독성을 다양한 화학적 성상을 가지는 불소화합물의 세포독성과 비교 분석하고자 불

화규산 및 그의 염 (sodium fluorosilicate, F₆Na₂Si), 여러 불소화합물 중 연구대상으로 가장 많이 사용되어 온 불화소다 (sodium fluoride, NaF), 및 이와 비슷한 화학적 성질을 가진 potassium fluoride (KF), 그리고 대사저해제로 알려져 있는 sodium fluoroacetate (FCH₂CO₂Na)의 세포독성을 측정하였다. 세포독성을 측정하기 위한 세포주로는 골육종 세포주인 MG-63 및 HOS, 구강상피암 세포주인 KB 및 A253을 사용하였다.

각각의 세포주에 대하여 성장 곡선을 작성하고 세포의 성장이 log phase에 있을 때 실험에 사용하였다.

연구에 사용된 불소화합물들의 골육종 및 구강암 세포주에 대한 세포독성을 측정된 결과는 Figs. 1~2와 같다. Fig. 1에서는 골육종 세포주인 HOS 및 MG-63에 대한 불소화합물의 세포 독성을 나타내었다. 연구에 사용된 각종 불소화합물 0, 10, 50 및 250 ppm을 가한 후 세포독성을 관찰하였을 때, 가장 낮은 농도인 10 ppm에서는 모든 불소화합물에서 유의성 있는 세포독성이 관찰되지 않았다. 50 ppm의 농도에서는 HOS의 경우 세포 생존율은 불화규산이 19% (Fluka) 및 21% (국내산)로서 가장 낮았다. 하지만 이들의 Na염인 sodium fluorosilicate의 경우에는 세포생존율이 35%였다. 50 ppm에서 다른 불소화합물, 즉 NaF, KF 및 sodium fluoroacetate의 경우에는 세포의 생존율이 각각 49%, 90% 및 48%로서 다양한 세포독성을 나타내었다 (Fig. 1A). MG-63 세포주의 경우에는 50 ppm의 농도에서 불화규산의 경우 80% (국내산) 및 84% (Fluka)의 세포생존율을 나타내었으나 다른 불소화합물에 의한 세포생존율의 저하는 관찰되지 않았다 (Fig. 1B). 고농도인 250 ppm에서는 HOS 세포주의 경우 KF (17%)와 sodium fluoroacetate (34%) 처리시 약간의 세포생존을 보였으며, 다른 불소화합물을 처리하였을 경우 <10%의 세포가 생존하였다. MG-63 세포의 경우에는 불화규산의 경우 모두 <10%의 세포생존율을 나타내었으며, 불화규산염의 경우 13%, 다른 불소화합물의 경우 32% (NaF), 64% (KF) 및 99% (FCH₂CO₂Na)의 세포생존율을 나타내었다. 골육종 세포주에 대한 세포독성 실험결과 국내산 불화규산은 Fluka에서 구입한 불화규산과 거의 유사한 결과를 보였다. 연구에 사용된 불소화합물의 불소함량이 각기 다

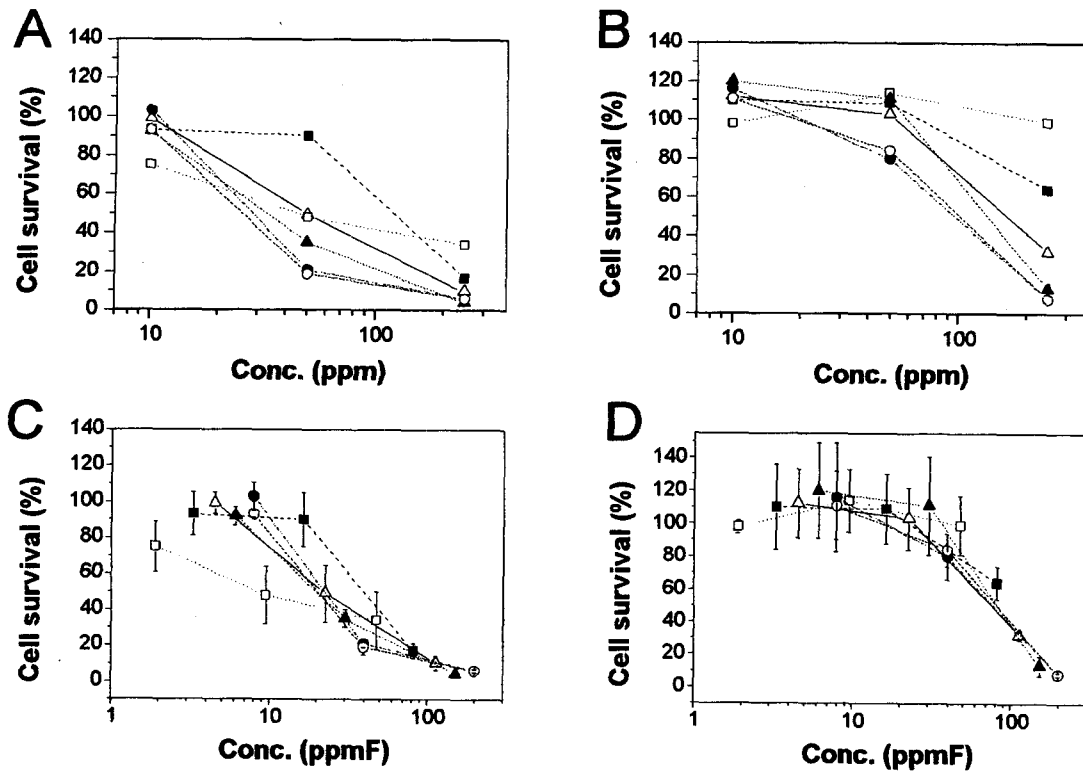


Fig. 1. Relative cell survival of osteosarcoma (HOS and MG-63) cells after treatment of various fluoride compounds. HOS (A) or MG-63 (B) cells were treated with 0, 10, 50 and 250 ppm of fluorosilicic acid (F₆H₂Si) - domestic (●) and from Fluka (○), sodium fluorosilicate (F₂Na₂Si, ▲), sodium fluoride (NaF, △), potassium fluoride (KF, ■), or sodium fluoroacetate (FCH₂CO₂Na, □) and relative cell survival was measured after 48 hrs of incubation with fluoride compounds. Relative cell survival of HOS (C) and MG-63 (D) cells upon treatment fluorides were plotted against fluoride concentrations of fluoride compounds.

르므로, 각 불소화합물의 불소함량을 살펴보면 다음과 같았다. 각 화합물 중 불화규산의 불소함량이 79.1%로 가장 높고, 불화규산염이 60.6%, NaF가 45.3%, KF가 32.7% 및 sodium fluorosilicate가 19.0% 순으로 감소하였다. 따라서, 불소함량을 기준으로 하여 각 불소농도를 산출하여 HOS 및 MG-63 세포주에 대한 세포독성이 나타나는 정도를 Fig. 1C 및 D에 나타내었다. 그 결과 불소화합물의 종류에 따른 세포독성 정도의 변화의 폭이 현저하게 줄어들었다. 이는 본 연구에 사용된 불소화합물의 세포독성이 불소화합물에서 유리된 불소이온에 의한 것임을 시사한다. 불소함량을 기준으로 MG-63 및 HOS 세포주에 미치는 세포독성을 비교 분석하였을 때 MG-63 세포주의 경우, 각 불소화합물의 불소함량 약 30 ppmF의 농

도에서도 세포독성을 거의 나타내지 않은 반면에 HOS세포의 경우 같은 농도에서 유의성 있는 세포독성을 나타내었다 (compare Fig. 1C and D). 이 결과는 불소화합물의 세포독성이 배지 중의 불소함량에 의존적이지만, 각 세포주 별로 그 감수성이 다름을 시사한다.

Fig. 2에서는 구강암 세포주인 KB 및 A253에 대한 불소화합물의 세포 독성을 나타내었다. 불소화합물을 0, 10, 50 및 250 ppm의 농도로 세포배양 배지에 가한 후 세포생존율을 측정하였다. 가장 낮은 농도인 10 ppm의 농도에서는 모든 불소화합물에서 KB 및 A253에 대한 세포독성이 미약하거나 관찰되지 않았다. 50 ppm에서의 KB에 대한 세포생존율은 불화규산의 경우 25% (국내산), 38% (Fluka)이었다. 하지만 불화규산염의 경우에는 세

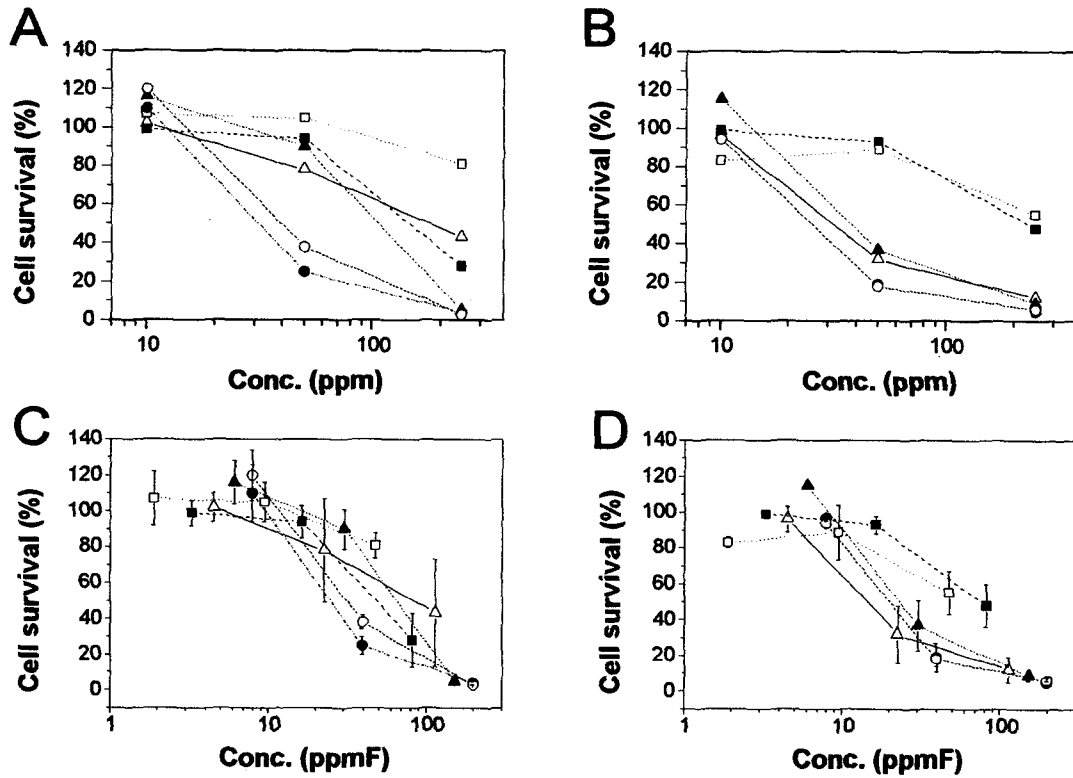


Fig. 2. Relative cell survival of oral carcinoma (KB and A253) cells after treatment of various fluoride compounds. KB (A) or A253 (B) cells were treated with 0, 10, 50 and 250 ppm of fluorosilicic acid (F_6H_2Si) - domestic (●) and form Fluka (○), sodium fluorosilicate (F_6Na_2Si , ▲), sodium fluoride (NaF, △), potassium fluoride (KF, ■), or sodium fluoroacetate (FCH_2CO_2Na , □) and relative cell survival was measured after 48 hrs of incubation with fluoride compounds. Relative cell survival of KB (C) and A253 (D) cells upon treatment fluorides were plotted against fluoride concentrations of fluoride compounds.

포독성이 거의 없어 세포생존율이 90%였다. 다른 화학적 성상을 가지는 불소화합물의 경우에도 세포생존율이 각각 78% (NaF), 94% (KF) 및 105% (FCH_2CO_2Na)으로 세포독성이 미약하거나 없었다 (Fig. 2A). A253 세포주의 경우 50 ppm의 농도에서 불화규산 처리시의 세포생존율이 19% (국내산) 및 18% (Fluka)로 가장 낮았으며, 다음으로 NaF (32%), sodium fluoroacetate (89%) 및 KF (93%) 순으로 증가되었다 (Fig. 2B). 불소화합물의 농도 250 ppm에서는 KB 세포주의 경우 sodium fluoroacetate 처리시 세포독성이 거의 나타나지 않았다. NaF 및 KF 처리시에 세포생존율이 각각 43% 및 28%로서 고농도에서 상대적으로 세포생존율이 높았다. Fluorosilicate 화합물들의 경우 >10%의 세포생존율을 보였다. A253 세포주의 경우 KB 세포주에서와 비

슷한 경향을 보였다. Sodium fluoroacetate, NaF 및 KF 처리시에 세포생존율이 각각 55%, 12% 및 48%였다. Fluorosilicate 화합물의 경우 >10%의 세포생존율을 보였다. 구강상피세포암에 미치는 불소화합물 세포독성을 각 화합물의 불소함량을 기준으로 비교한 결과가 Fig. 2의 C 및 D에 있다. 골육종 세포주에서와 마찬가지로 불소화합물의 종류에 따른 세포독성의 차이의 폭이 현저하게 줄어드는 것이 관찰되었으며, 이는 불소화합물의 세포독성이 각 화합물의 불소함량에 의존적인 상기의 결과를 확인하는 것이다.

불소화합물이 세포에 미치는 독성은 세포주에 따라서 그 반응이 다양하게 나타나고, 또한 각 불소화합물 간의 불소 함량의 차이가 있으므로 정량적인 상대적인 비교를 수행하기는 여러 가지

어려운 점이 있다. 본 연구에 사용된 세포주 중에서 골육종 세포주인 MG-63이 불소화합물 처리에 대해 가장 저항성을 나타내었다. 국내산 불화규산은 Fluka에서 구입한 불화규산과 유사한 세포독성을 나타내었다. 불소화합물의 농도를 불소함량 기준으로 30~50 ppmF 전후의 농도에서의 HOS 세포주에 대한 세포독성은 불화규산 > 불화규산염, NaF, sodium fluoroacetate > KF 순으로, MG-63에 대하여는 전반적으로 세포독성이 약하게 나타났으나, 그 순서는 대략적으로 불화규산, NaF, KF > 불화규산염, sodium fluoroacetate 이었다 (Fig. 1, C and D). KB 세포주에 대한 불소화합물의 개략적인 상대독성은 불화규산 > KF, NaF, 불화규산염 > sodium fluoroacetate 순서로 높게 나타났으며, A253 세포주에 대한 상대독성은 불화규산, NaF > 불화규산염 > sodium fluoroacetate, KF 순이었다 (Fig. 2, C and D). 본 연구 결과에서 다양한 화학적 성상을 가지는 여러 불소화합물 간의 상대독성은 상기와 같이 세포주에 따라 다르게 나타났으나, 그 개략적인 경향은 동일 불소함량 기준에서 비교하였을 때 불화규산의 세포독성이 가장 높게 나타났으며, sodium fluoroacetate의 독성이 가장 낮게 나타났다. NaF, KF 및 불화규산염의 경우 비슷한 경향을 나타내었으나 NaF의 세포독성이 상대적으로 강하고 KF 및 불화규산염이 상대적으로 약한 것으로 나타났다.

불소화합물의 세포독성실험 결과 산성의 불화규산의 경우 상대적으로 염기성의 불화규산염 보다 세포독성이 높게 관찰되었다. 불화규산과 불화규산염의 화학적 성상은 유사하나 화합물을 용해시 pH의 변화가 있으므로, 불화규산의 세포독성이 불소이온에서 유래할 뿐만 아니라 pH에 의존적임을 시사한다. 따라서 본 연구에서는 불화규산 함유 배지의 pH차이에 따른 세포독성을 비교하였다. 불화규산을 함유한 세포배양배지의 pH를 7.4 및 6.5로 조절한 후 이를 HOS 세포주에 가하고 48시간 배양 후의 세포생존율을 비교 분석하였다 (Fig. 3). 약산성(pH 6.5)에서의 세포 생존율이 체내혈장의 pH인 약염기성(pH 7.4)에서의 세포생존율보다 저하하였으며, 본 연구 조건에서 세포생존율의 차이는 약 10% 정도였다. 이 결과는 상기의 구강암 및 골육종 세포주에서 얻어진 결과와 일치하며 또한 NaF를 이용한 다른 연구자들의 보고

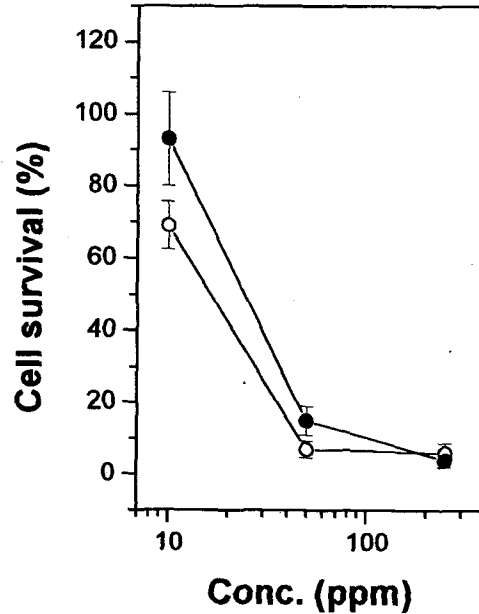


Fig. 3. Relative cell survival of human osteosarcoma (HOS) cells at different pH containing fluorosilicate. Cells were incubated with 0, 10, 50 and 250 ppm of fluorosilicate at pH 7.4 (●) and pH 6.5 (○) for 48 hrs and the relative cell survival was measured.

(Hirano *et al.*, 1996; Hegelland and Leirskar, 1976) 와도 일치한다.

고 찰

세포의 항상성 유지와 환경 등의 외적인 변화에 대한 세포반응 메커니즘에 대한 중요성이 인식되고 이에 대한 연구는 계속되어왔다. 구강조직에서 특히 가장 중요한 외부 환경 요소 중 하나인 불소화합물에 노출되었을 때 이를 인식하고 이러한 변화를 세포 내로 전달하여 유전자 발현을 초래하여 생화학 및 생리학적 변화를 초래하는 메커니즘에 대한 연구는 더욱 중요하다 할 수 있을 것이다. 국내에서 상수도의 불소화 사업에 사용되고 있는 불화소다는 전량 외국에서 사용되고 있어 많은 외화가 낭비되고 있다. 최근 국내에서 그 효과가 우수하고 다른 불소화합물 보다 취급과 용량 조절이 용이한 불화규산이 국내에서 생산되어 불화규산의 상수도 불소화 사업에 이용이 시도되고 있으므로 국산 불화규산에 대한

기초연구가 요망되고 있다. 따라서 본 연구에서는 불소화합물의 작용 기전에 대한 규명에 앞서, 1차적인 연구로서 국내산 불화규산을 비롯한 여러 불소화합물의 골육종 및 구강암 세포주에 대한 세포독성을 비교 분석하여 그 결과를 보고하였다.

본 연구의 결과에서는 불소화합물에 대한 여러 세포의 감수성이 세포에 따라 다양하며, 불소화합물의 세포독성은 화합물에 함유된 불소에 기인함을 시사하고 있다. 국내산 불화규산은 실험에 사용된 모든 세포주에서 Fluka에서 구입한 불화규산과 비슷한 정도의 세포독성을 나타내었다. 따라서 국내산 불화규산을 더 이상의 정제과정 없이 사용 가능하리라 생각된다. 하지만 앞으로 다각도에서의 불화규산에 대한 연구가 지속적으로 수행되어야 할 것이다. 화학적 조성이 다른 불화물의 염색체에 미치는 손상의 정도를 비교한 연구에서 NaF와 KF의 영향이 서로 비슷하다고 보고된 바 있으나 (Khalil, 1995) 본 연구결과에서는 사용된 세포주에 따라 약간의 차이를 나타내었다. MG-63과 KB 세포주의 경우 NaF와 KF의 세포독성이 유사하게 나타났으나, HOS와 A253 세포주에서는 NaF의 세포독성이 높게 나타났다. 뿐만 아니라 화학적 성상이 다른 불화규산 및 그의 염도 세포주에 따른 세포독성이 다양하게 나타났다. 대사 저해제인 sodium fluoroacetate의 경우 전반적으로 다른 불소화합물에 비하여 그 독성이 낮게 나타났다. 이는 sodium fluoroacetate에 함유된 불소가 다른 화합물에 함유된 불소와는 달리 용해 시 이온화되지 않는 화학적 성상을 가지고 있으므로 본 연구조건에서는 세포독성이 낮게 나타났다고 사료된다. 불화규산의 경우 그 세포독성은 pH가 저하됨에 따라 상승되는 pH 의존성을 보였다. 이러한 경향은 NaF 등의 다른 불소화합물의 결과와 일치한다 (Hirano and Ando, 1997; Hegeland and Leirskar, 1976). 앞으로 이러한 불소화합물의 작용 메커니즘을 밝혀 다양한 불소화합물의 세포독성 유도 기전을 규명하여 실생활에 적용되는 불소화합물에 대한 이해의 폭을 넓혀 나아가야 할 것이다.

결 론

본 연구에서는 여러 화학적 성상을 가지는 불소화합물을 골육종세포주 및 구강암세포주에 미

치는 세포독성을 비교 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 여러 불소 화합물의 세포 독성은 각 화합물에 포함된 불소 화합물의 농도보다는 각 화합물에서 유리된 불소의 농도에 의존적인 경향을 나타냈으며, 낮은 농도 (<10 ppm)에서는 거의 독성이 없었고 높은 농도 (>50 ppm)에서 세포주에 따라 다양한 세포독성이 관찰되었다.
2. 연구에 사용된 골육종세포주 및 구강암세포주의 불소화합물에 대한 감수성은 다양하게 나타났으며, 그중 골육종세포주인 MG-63이 불소화합물에 대해 가장 높은 저항성을 나타내었다.
3. 국내에서 생산된 불화규산은 시약으로 판매 중인 불화규산과 유사한 정도의 세포독성을 보였다.
4. 연구에 사용된 불소화합물 중 불화규산이 높은 농도에서 가장 높은 독성을 나타내었으며, 이는 세포 배양배지의 pH 저하에 의한 것임을 시사하였다.

감사의 글

본 연구는 한국학술진흥재단의 대학부설연구소 지원 연구비로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Aardema, M.J., Gibson, D.P. and Leboeuf, R.A., Sodium fluoride-induced chromosome aberrations in different stages of the cell cycle: a proposed mechanism. *Mutat. Res.*, 1989; 223: 191-203

Albanese, R., Sodium fluoride and chromosome damage (in vitro human lymphocyte and in vivo micronucleus assays). *Mutagenesis*, 1987; 2: 497-499

Aliev, A.A. and Babaev, D.A., Cytogenetic activity of Vitamins in the bone marrow cells of rat femurs under conditions of induction of mutation by sodium fluoride. *Histol. Genet.* 1981; 15: 19-23

Caspary, W.J., Myhr, B., Bowers, L., McGregor, D., Riach, C. and Brown, A., Mutagenic activity of fluorides in mouse lymphoma cells. *Mutat. Res.* 1987; 187: 165-180

Cole, J., Muriel, W.J. and Bridges, B.A., The mutagenicity of sodium fluoride to L5178Y wild type and TK+/- (3.7.2c) mouse lymphoma cells. *Mutagenesis* 1986; 1:

- 157-167
- Gebhart, E., Wagner, H. and Behnsen, H., The action of anticlastogens in human lymphocyte cultures and its modification by rat liver S9 mix, I. Studies with AET and sodium fluoride. *Mutat. Res.* 1984; 290: 293-302
- Hayashi, N. and Tsutsui, T., Cell cycle dependence of cytotoxicity and clastogenicity induced by treatment of synchronized human diploid fibroblasts with sodium fluoride. *Mutat. Res.* 1993; 290: 23-302
- Helgeland, K. and Leirskar, J., pH and the cytotoxicity of fluoride in an animal cell culture system. *Scand J. Dent. Res.* 1976; 84: 37-45
- Hirano, S. and Ando, M., Fluoride mediates apoptosis in osteosarcoma UMR 106 and its cytotoxicity depends on the pH. *Arch. Toxicol.* 1997; 72: 52-58
- Holland, R.I., Cytotoxicity of fluoride. *Acta Odontol. Scand.* 1980; 38: 69-79
- Jagileo, G. and Lin, J.S., Sodium fluoride as potential mutagen in mammalian eggs. *Arch. Environ. Health* 1974; 29: 230-235
- Jones, C.A., Callahan, M.F. and Huberman, E., Sodium fluoride promotes morphological transformation of syrian hamster embryo cells. *Carcinogenesis* 1988; 9: 2279-2284
- Khalil, A.M., Chromosome aberrations in cultured rat bone marrow cells treated with inorganic fluorides. *Mutat. Res.* 1995; 343: 67-74
- Khalil, A.M. and Da'dara, A.A., The genotoxic and cytotoxic activities of inorganic fluoride in cultured rat bone marrow cells. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1994; 6: 60-63
- Kishi, K.K. and Tonomura, A., Cytogenetic effects of sodium fluoride. *Mutat. Res.* 1984; 130: 367
- Li, Y., Dunipace, A.J. and Stookey, G.K., Lack of genotoxic effects of fluoride in the mouse bone-marrow micronucleus test. *J. Dent. Res.* 1987a; 66: 1687-1960
- Li, Y., Heerema, N.A., Dunipace, A.J. and Stookey, G.K., Genotoxic effects of fluoride evaluated by sister-chromatid exchange. *Mutat. Res.* 1987b; 192: 191-201
- Mihashi, M. and Tsutsui, T., Clastogenic activity of sodium fluoride to rat vertebral body-derived cells in culture. *Mutat. Res.* 1996; 368: 7-13
- Murray, J.J., Rugg-Gunn, A.J. and Jenkins, G.N., Fluorides in caries prevention. 3rd ed 1991. Butterworth-Heinemann Ltd
- Pati, P.C. and Bhunya, S.P., Genotoxic effect of an environmental pollutant, sodium fluoride in mammalian *in vivo* test system. *Caryologia* 1987; 40: 79-87
- Thomson, E.J., Kilanowski, F.M. and Perry, P.E., The effect of fluoride on chromosome aberration and sister chromatid exchange frequencies in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.* 1985; 144: 89-92
- Tsutsui, T., Suzuki, N. and Ohmori, M., Sodium fluoride-induced morphological and neoplastic transformation, chromosome aberrations, sister chromatid exchanges, and unscheduled DNA synthesis in cultured syrian hamster embryo cells. *Cancer Res.* 1984; 44: 938-941
- Tsutsui, T., Tanaka, Y., Matsudo, Y., Uehama, A., Someya, T., Hamaguchi, F., Yamamoto, H. and Takahashi, M., No increases in chromosome aberrations in human diploid fibroblasts following exposure to low concentrations of sodium fluoride for long times. *Mutat. Res.* 1995; 335: 15-20