

## 비소와 크롬에 의한 산화적 스트레스와 염색체 상해에 대한 셀레늄의 방어 효과

기혜성 · 손은희 · 박영철\* · 유일재\*\* · 맹승희\*\* · 정해원  
서울대학교 보건대학원, \*서울대학교 의과대학, \*\*산업보건연구원

## An anti-clastogenic Role of Selenium in Arsenic- and Chromium-induced Oxidative Stress Causing Chromosomal Damages

Hye-Sung Kee, Eun-Hee Sohn, Yeong-Chul Park\*, Il-Je Yu\*\*,  
Seung-Hee Maeng\*\* and Hai-Won Chung  
School of Public Health, Seoul National University  
\*College of Medicine, Seoul National University  
\*\*Industrial Health Research Institute

### ABSTRACT

This experiment was carried out to examine the roles of selenium in arsenic- and chromium-induced oxidative stress, which results in chromosomal damage, such as sister chromatid exchange (SCE) and chromosomal aberration (CA). For this purpose, the frequency of CA and SCE related to the level of oxidative stress were analyzed. Selenium decreased the frequency of CA induced by As. In order to evaluate the effect of selenium on clastogenic factors, media from As- and Cr-treated cells were ultrafiltered and added again to cells in the presence or absence of selenium. Selenium decreased the frequency of SCE by As and Cr. This observation indicates the possibility of presence of clastogenic factor. In addition, the clastogenic factor would be involved in oxidative stress since selenium decreased the level of oxidative stress. Thus, it is suggested that selenium may play a role as an anti-clastogenic effector by preventing the oxidative stress, thereby decreasing the frequency of As- and Cr-induced chromosomal damage.

**Keywords** : Selenium, Chromosomal damage, Oxidative stress, Clastogenic factor, Antioxidant

### I. 서 론

최근 노화를 비롯하여 여러 질병의 발병에 있어서 주요한 기전이 프리라디칼에 의한 산화적 스트레스의 발생으로 설명되고 있다.<sup>1)</sup> 특히 많은 발암 물질이나 돌연변이 물질이 생체내 대사를 통해, 그 자체가 프리라디칼로 되거나 또는 프리라디칼의 생성을 유도하는 매개역할을 한다. 이러한 프리라디칼은 DNA 또는 염색체의 이상을 유발하여 정상세포를 암세포로 전환을 유도하거나 여러 질병을 일으키게 된다. 따라서 여러 독성 물질에 의한 산화적 스트레스에 대한 방어는 질병의 발생을 막는 중요한 예방

책이라 할 수 있다. 이러한 측면의 중요성은 산화적 스트레스의 발생을 줄이는 항산화적 물질에 대한 연구를 촉진시켰다.

특히 항산화 물질중 셀레늄은 생리적 또는 영양적인 측면에서 많은 연구가 지난 40년 동안 이루어 졌는데 셀레늄이 간손상을 감소시키고 또한 산화적 스트레스에 대한 항산화적 역할에 대한 연구들이 중요한 계기가 되었다.<sup>2,3)</sup> 셀레늄은 사람을 비롯하여 동물에 있어서 산화적 스트레스의 원인이 되는 hydrogen peroxide와 lipid peroxide를 대사 또는 제거시키는 glutathione peroxidase의 필수 구성요소인 점은 잘 알려진 사실이다.<sup>4)</sup> 셀레늄은 비금속성 필수 미량 원소로서 곡류와

유류를 통해 생체에 흡수되거나 부족시 Keshan disease을 유발하는데 그 기전은 정확하게 알려지지 않았다.<sup>12)</sup> 또한 셀레늄은 금속성 원소 또는 금속성을 어느 정도 갖고 있는 원소인 metalloids는 아니지만 이들과의 동시 투여에 의한 생체 반응에 대해 많은 연구가 이루어 졌으나 산화적 스트레스 관련 그 역할에 대해서는 미미한 편이다. 특히 카드뮴, 수은, 구리, 비소 등의 금속 또는 중금속으로 인한 세포독성을 비롯한 염색체 이상을 셀레늄이 감소시킨다는 보고가 있으나 아직까지 그 정확한 기전은 밝혀져 있지 않았다.<sup>13)</sup> 이를 위해 본 연구에서는 metalloid인 비소(Arsenic : As)와 금속성 원소인 크롬(Chromium : Cr)이 셀레늄과 같이 이용되었다. 비소를 비롯하여 크롬등은 자매염색체 교환(Sister chromatid exchange : SCE)등을 비롯한 염색체 이상을 일으켜 암과 여러 질환 질환의 원인으로 이해되고 있다.<sup>14)</sup> 이들에 의한 염색체 이상과 관련한 기전은 정확하게 알려지지 않았지만 직접적으로 DNA와 DNA 관련 단백질과 결합, 복합체(complex)를 형성하는 것으로 제시되었다.<sup>15)</sup> 그러나 이러한 직접적인 영향보다 이들의 투여로 유발되는 clastogenic effect(CF)에 의한 간접적인 영향에 의한 염색체 이상이 유발되는 가능성도 제시되고 있다.<sup>16)</sup> 비소와 크롬은 프리라디칼을 생성, 산화적 스트레스에 의한 세포 독성을 유발한다고 알려졌다.<sup>17)</sup> 이러한 측면은 CF에 의해 유도된 산화적 스트레스에 의한 염색체 상해의 가능성이 추정된다.<sup>18)</sup> 따라서 이들 물질에 의한 염색체 이상 기전을 산화적 스트레스와 관련하여 CF 측면에서의 규명이 필요하며 특히 이는 산화적 스트레스에 기인하는 여러 질병의 원인과 예방에 있어서 중요하다.

본 연구에서는 이러한 원인 규명과 예방의 가능성을 고려하여 항산화적 효과를 갖고 있는 대표적 물질의 하나인 셀레늄이 이용되었다. 즉 프리라디칼을 생성하는 비소와 크롬에 대한 세포독성에 대한 셀레늄의 방어 기전을 확인하였다. 이를 위해 세 종류의 원소를 동시 또는 시간을 달리하여 처리한 후 산화적 스트레스와 관련하여 SCE 와 염색체 이상의 발생 빈도를 관찰하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 세포배양

CHO-K<sub>1</sub> 세포를 10% 우태아 혈청이 포함된 Mc-

Coy's 5A 배지에서 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 항온기에 배양하면서 실험재료로 사용하였다.

### 2. 비소, 크롬 및 셀레늄 처리

비소(sodium arsenite), 크롬(potassium dichromate) 및 셀레늄(sodium selenite)을 PBS(phosphate buffered saline) 용액에 각각 10<sup>-4</sup>M의 stock solution 으로 만든 후 고압증기멸균하여 세포균에 처리하였다.

### 3. 염색체 분석

2.5×10<sup>6</sup>개의 CHO세포를 심고 비소(20 μM)를 처리하고 동시에 셀레늄(50 μM)을 처리한 경우(G<sub>1</sub>) 및 비소 처리 후 3시간이 경과하고 나서 PBS 용액으로 세척 후에 셀레늄을 처리한 경우, 그리고 비소처리 3시간후 세척하고 12시간 추가 배양한 후, 셀레늄을 처리하고(G<sub>2</sub>) 3시간후 염색체 표본을 작성하였다.

### 4. 배양추출물의 분리와 자매염색체 교환(sister chromatid exchange : SCE) 분석

CHO세포에 비소(20 μM) 및 셀레늄(50 μM)을 처리하거나 크롬(10 μM) 및 셀레늄(30,50 μM)을 처리하고 18시간 배양한후 배양액을 수거하여 150g에서 6분간 원심분리한 다음 상층액을 Diaflo ultrafiltration을 시행하여 분자량 1,000-10,000 dalton 사이의 물질을 40배농도(500 μl)로 농축, 추출하였다.<sup>19)</sup> 이 배양추출물을 새로운 CHO세포에 처리하고 5-Bromo-2'- deoxyuridine이 포함된 배양액에서 36시간 배양후 염색하여 50개의 세포를 임의로 선택하여 관찰하였다.

### 5. 지질과산화

6.7×10<sup>6</sup>개의 CHO세포를 심고 비소(20 μM)와 함께 셀레늄(50 μM)을 처리하여 배양한후 세포를 수거하여 homogenizer로 분쇄한 후 thiobarbituric acid (TBA)와의 반응으로 생성 되는 malondialdehyde (MDA) 양을 측정하였다.<sup>20)</sup>

## III. 결 과

### 1. 셀레늄이 비소에 의해 유발되는 염색체 이상에 미치는 영향

G<sub>1</sub>시기에 셀레늄과 비소를 동시 처리한 경우의 염색체 이상을 나타내는 세포비율은 비소 단독처리군

**Table 1.** Effect of selenium on the frequency of chromosome aberration induced by arsenic

Treatment (µm)	No. of cells counted	Percent of Aberrant cells	structural aberrations/100 cells					
			Chromatid Type			Chromosome Type		
			Exchange	Deletion	Total <sup>a</sup>	Exchange	Deletion	Total <sup>a</sup>
Control	200	4.0	0.0	1.5	1.5 ± 0.7	2.0	0.5	2.5 ± 0.7
Se 50	200	5.0	0.0	1.5	1.5 ± 0.7	3.5	0.0	3.5 ± 2.1
As 20	200	12.5	1.5	7.5	9.0 ± 2.8	3.5	0.0	3.5 ± 0.7
As 20+Se 50 (G <sub>1</sub> ) <sup>b</sup>	200	8.5	2.5	4.0	6.5 ± 2.1	2.0	0.0	2.0 ± 0.0
As 20+Se 50 (G <sub>1</sub> ) <sup>c</sup>	200	9.0	1.5	4.5	6.0 ± 1.7	3.0	0.0	3.0 ± 0.0
As 20+Se 50 (G <sub>2</sub> ) <sup>d</sup>	200	12.0	1.5	6.5	8.0 ± 1.4	3.5	0.5	4.0 ± 0.0

<sup>a</sup>Each datum is the mean and standard deviation of independent experiments.

<sup>b</sup>Treatment of the cells with Arsenic and Selenium simultaneously at G<sub>1</sub>.

<sup>c</sup>Treatment of the cells with Selenium after three hours treated with Arsenic at G<sub>1</sub>.

<sup>d</sup>Treatment of the cells with Selenium during G<sub>2</sub>.

의 12.5%에 대하여 8.5%로 유의하게 감소되었다 (p<0.05). G<sub>1</sub>시기에 비소 처리 후 3시간이 경과하고 나서 PBS 용액으로 세척후에 셀레늄을 처리한 경우도 마찬가지로 염색체 이상을 나타내는 세포비율이 비소단독처리군의 12.5%에 대하여 9.0%로 유의하게 감소하였다(p<0.05). 그러나 G<sub>2</sub>시기에 셀레늄을 처리한 경우의 염색체 이상을 나타내는 세포비율은 비소단독군의 12.5%에 대하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 1). 따라서 비소에 의해 유발되는 염색체 이상에 대하여 G<sub>1</sub>시기에 셀레늄을 처리한 경우는 비소에 의한 염색체 이상 세포비율을 감소시켰으나 G<sub>2</sub>시기에 셀레늄을 처리한 경우는 큰 영향을 미치지 않았다. 결과로 제시하지는 않았으나 세포에 셀레늄만 처리하였을때 셀레늄 50 µM 농도에서는 염색체 이상을 유발하지 않았으나 100 µM 농도에서는 염색체 이상을 유발하였다.

## 2. 셀레늄이 비소에 의한 배양추출물의 세포독성 에 미치는 영향

CHO세포에 비소(20 µM)와 셀레늄(50 µM)을 처리한 후 18시간동안 배양하고나서 배양추출물을 분리하여 이를 다시 새로운 세포에 처리하여 36시간을 배양한 후에 자매염색체 교환 빈도를 알아보았다. 셀레늄과 비소를 동시에 처리하여 분리한 배양추출물에서의 세포당 자매 염색체 교환빈도는 8.91로 비소단독처리군의 배양추출물의 빈도 10.62에 비교하여 유의하게 감소하였으며(p<0.01) 기대치인 10.85에 대하여도 유의하게 감소하였다(p<0.01). 대조군의 세포당 자매염색체 교환빈도 7.83에 대하여 배양액과 셀레늄, 배양액과 셀레늄과 세포를 처리한 군에서는 각각 8.04, 8.06으로 통계적으로 유의한 차이가 없어 셀레늄의 배양추출물에 의한 독성효과는 없었다(Table 2).

**Table 2.** Effect of selenium treated during G<sub>1</sub> on the SCE frequency induced by concentrated ultrafiltrates of media from CHO cells treated with arsenic

Type of Ultrafiltrates(µM) <sup>a</sup>	No. of cells counted	Total No. of chromosome	Total No. of SCE	SCE/Cell (M ± S.D.)	SCE/Chromosome (M ± S.D.)
Cell+Med (Control)	100	1907	783	7.83 ± 2.55	0.385 ± 0.156
Med+Se 50	100	1895	804	8.04 ± 2.64	0.360 ± 0.184
Med+As 20	100	1922	899	8.99 ± 2.89**	0.447 ± 0.269
Cell+Med+Se 50	100	1884	806	8.06 ± 2.48	0.400 ± 0.163
Cell+Med+As 20	100	1682	1062	10.62 ± 2.92**	0.547 ± 0.163
Cell+Med+As 20+Se 50	100	1891	891	8.91 ± 2.75***	0.441 ± 0.190

<sup>a</sup>Concentrated ultrafiltrates of media from CHO cells treated with Arsenic and Selenium.

\*\*Observed value is significantly higher than control value(P<0.01).

\*\*\*Observed value is significantly lower than Cell+Med+As 20 value(P<0.01).

### 3. 셀레늄이 크롬에 의한 배양추출물의 세포독성에 미치는 영향

Media 자체의 독성효과나 셀레늄 단독만의 효과에 대하여는 비소의 실험에서 대조군(Cell+Med)과 유의한 차이를 보이지 않았으므로 본 과정에서는 제외시켰고 따라서 기대치는 산출하지 못하였다. 크롬의 농도를 10  $\mu\text{M}$ 로 정한 이유는 100개 세포당 염색체 이상 세포비율이 위 실험에서의 비소 농도 20  $\mu\text{M}$ 과 비슷했기 때문이다. 비소와 마찬가지로 크롬에서도 대조군과 비교하여 크롬을 처리한 군의 배양추출물에서의 자매염색체 교환빈도가 유의하게 높았다( $p < 0.01$ ). 셀레늄 처리시 자매염색체 교환빈도 감소에 대한 차이를 비교하였을 때 오히려 50  $\mu\text{M}$ 보다( $p < 0.05$ ) 30  $\mu\text{M}$ 에서( $p < 0.01$ ) 세포와 크롬을 처리한 군에서의 독성을 감소시키는 효과가 더 크게 나타났음을 관찰할 수 있는데 이는 셀레늄이 고농도로 작용시 돌연변이원으로도 작용할 수 있다는 사실에 근거한다면 비소와는 달리 크롬독성에 관하여는 30  $\mu\text{M}$ 의 셀레늄이 50  $\mu\text{M}$ 의 농도보다 항산화제의 역할은 효과적이었다는 사실을 알 수 있었다(Table 3).

### 4. 셀레늄이 비소에 의한 지질과산화에 미치는 영향

CHO세포에 비소(20  $\mu\text{M}$ )와 셀레늄(50  $\mu\text{M}$ )을 동시에 처리하여 18시간을 배양한 후에 TBA 분석을 시행하여 지질과산화에 의해 생성된 MDA의 양을 측정하였다(Table 4). 비소와 셀레늄을 동시에 처리한 군에서의 MDA 양은 6.00으로서 비소단독처리군의 9.90에 비교하여 통계적으로 유의하게 감소하였으며( $p < 0.05$ ) 기대치인 9.83에 대하여도 마찬가지로 유의하게 감소하였다( $p < 0.05$ ).

**Table 4.** Effect of selenium treated during  $G_1$  on the malondialdehyde formation induced by arsenic

Dose of Arsenic ( $\mu\text{M}$ )	nmole MDA/mg Protein (M $\pm$ S.D.)
Control	5.10 $\pm$ 1.40
Se 50	5.03 $\pm$ 0.76
As 20	9.90 $\pm$ 0.45
As 20+Se 50	6.00 $\pm$ 0.67*

\*Observed value is significantly lower than As 20 value( $p < 0.05$ ).

## IV. 고 찰

비소에 의한 염색체 이상은 clastogenic factor (CF)에 의한 간접적인 작용 기전으로 설명되고 있다. 이러한 clastogenic effect는 주로 산화적 스트레스와 관련된 여러 기전중 프리라디칼을 생성하는 As-complex 형성과 더불어 항산화적 효소계의 활성 억제에의 가능성이 제시되고 있다. 비소에 의한 염색체 이상이 세포내 가장 풍부한 항산화 물질인 glutathione (GSH)의 결핍에 기인하며  $\text{H}_2\text{O}_2$ 을 제거시키는 항산화효소인 catalase를 비롯하여 glutathione peroxidase (GPX)활성등을 유의하게 감소시키는 것은 이러한 가능성을 잘 보충하여준다.<sup>15,17</sup> 특히 GSH의 결핍은 GPX의 cofactor로서 그 활성과 밀접한 관계가 있다. 본 실험에 이용된 셀레늄 역시 GPX의 활성에 중요한 역할을 한다. 본 연구에서 이용된 sodium selenite는 동물용 이용한 독성연구와 결핍증을 예방하는 용도로 광범위하게 사용되고 있다.<sup>18</sup> Sodium selenite는 여러 단계를 거쳐서 dimethyl selenide로 대사된후 항산화제 효소인 GPX

**Table 3.** Effect of selenium treated during  $G_1$  on the SCE frequency induced by concentrated ultrafiltrates of media from CHO cells treated with chromium

Type of Ultrafiltrates( $\mu\text{M}$ ) <sup>a)</sup>	No. of cells counted	Total No. of chromosome	Total No. of SCE	SCE/Cell (M $\pm$ S.D.)	SCE/Chromosome (M $\pm$ S.D.)
Cell+Med (Control)	50	962	386	7.72 $\pm$ 2.19	0.381 $\pm$ 0.139
Med+Cr 10	50	974	482	9.64 $\pm$ 2.96	0.483 $\pm$ 0.167
Cell+Med+Cr 10	50	968	575	11.50 $\pm$ 3.25*	0.595 $\pm$ 0.170
Cell+Med+Cr 10+Se 30	50	972	475	9.50 $\pm$ 2.50**	0.467 $\pm$ 0.177
Cell+Med+Cr 10+Se 50	50	968	517	10.34 $\pm$ 2.65***	0.516 $\pm$ 0.172

<sup>a)</sup>Concentrated ultrafiltrates of media from CHO cells treated with Arsenic and Selenium.

\*Observed value is significantly higher than control value( $P < 0.01$ ).

\*\*Observed value is significantly higher than Cell+Med+Cr 10 value( $P < 0.01$ ).

\*\*\*Observed value is significantly lower than Cell+Med+Cr 10 value( $P < 0.05$ ).

에 결합하는 selenocystein의 전구체이다. 합성된 GPX는 산화적 스트레스의 원인이 되는 hydrogen peroxide와 lipid peroxide를 대사 또는 제거시켜 세포내 산화적 스트레스의 방어를 위한 대표적 항산화적 효소이다.<sup>39</sup> 따라서 셀레늄에 의한 SCE를 비롯한 염색체 이상의 감소는 GPX의 활성 증가를 유도, 비소에 의해 증가된 세포내 산화적 스트레스의 감소에 의한 것으로 사료된다.

본 연구 결과, G<sub>1</sub> 시기에 비소와 동시에 셀레늄을 투여한 경우 비소만을 투여하였을 때 보다 염색체 이상 빈도가 감소되었고 비소 투여 3시간후에 셀레늄을 투여하였을 경우에도 염색체 이상이 감소되었다. 즉 비소 투여 3시간 후 세척하고 셀레늄을 투여한 경우에도 같은 효과를 보았기 때문에 비소와 셀레늄을 동시에 투여했을 때 이 두 원소사이의 직접적인 상호작용에 의한 가능성을 배제할 수 있었다. 그러나 셀레늄을 세포 주기를 달리하여 G<sub>2</sub> 시기에 처리한 결과, 비소에 의해 유도된 염색체 이상의 빈도에 있어서 유의한 감소가 없었다. 일반적으로 CF에 의한 염색체 이상은 주로 늦은 세포주기에서 나타난다고 알려져 있어서 본 연구와 상치되는 점이 있다. 그러나 또 다른 측면에서, G<sub>2</sub> 시기에 셀레늄의 효과가 없는 것은 셀레늄의 항산화적 방어 효과의 지연으로 비소에 의해 유도된 산화적 스트레스가 DNA S 시기에 작용, G<sub>2</sub> 시기전에 염색체의 이상이 유발된 결과로 이해할 수 있다. 특히, 비소에 의한 clastogenic effect가 G<sub>1</sub> 시기에서 S 시기에 염색체 이상을 유발하는데 있어서 가장 치명적으로 작용한다고 알려졌다.<sup>100</sup> 이러한 점은 앞서 언급한 CF의 영향에 대한 기전을 이해하는데 있어서 또 다른 측면을 고려할 수 있을 뿐 만아니라 논란의 가능성이 있다.

셀레늄에 의한 항산화적 효과는 비소에 의해 증가된 SCE를 비롯하여 염색체 이상이 산화적 스트레스의 발생에 의한 것으로 간접적으로 추측할 수 있는 하나의 증거로 제시될 수 있다. 비소에 의한 산화적 스트레스는 염색체 이상을 간접적으로 유발하는 clastogenic factor (CF)의 존재 가능성을 제시해 준다. 지금까지 연구에 의하면 CF를 유발하는 물질로서 이온화 방사선, PMA (phorbolmyristate acetate), aflatoxin, 석면 등을 비롯하여 비소 등에 의해 생성되는 것으로 알려졌다.<sup>113,201</sup> 이러한 CF는 다양한 형태로 존재하지만, 크롬 및 비소는 세포내 glutathione (GSH)과 결합, 복합체 형성을 통해 hydroxyl radical을 생성한다고 한다.<sup>211</sup> 특히 생성된

hydroxyl radical은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 Fenton-like 반응을 통해 산화적 스트레스를 증가, 염색체 이상을 유발시키는 직접적 원인이 된다.

따라서 CF-매개 산화적 스트레스에 의한 염색체 이상에 대한 기전에 대한 연구는 중요하다고 사료된다. 본 연구에서는 이러한 CF의 존재 가능성을 배양 추출물을 통해 확인하였다. CF는 아직 그 생화학적 특성이 밝혀지지는 않고 있지만 분자량이 1,000-10,000 dalton이라고 알려졌다.<sup>221</sup> 또한 비소와 크롬에서 분리한 배양추출물이 독성을 유발한다는 사실을 확인함으로써 중금속에 의한 CF의 생성가능성을 제시하였다.<sup>113,121</sup> 특히 생체막의 주요한 다중 불포화 지방산의 하나인 arachidonic acid는 효소적으로 cyclo-lipoxygenase 경로를 경유하거나 비효소적으로 배양액의 산소자유라디칼에 의하여 산화되는데 이러한 산화된 지질과산화산물들은 염색체 이상 유발성을 가지며 이들이 CF의 구성성분일 가능성이 보고되었다.<sup>121</sup> CF에 의한 산화적 스트레스를 증가시키는 기전이 직접적으로 프리라디칼의 생성에 대한 영향에 의해, 또는 정상적 대사중에 불가피하게 생성되는 프리라디칼을 제거하는 항산화적 효소계에 대한 억제에 대한 영향인지는 정확하지 않다. 최근에 또한 비소가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>을 제거시키는 항산화효소인 GPX 뿐만 아니라 catalase의 활성을 유의하게 줄인다고 알려졌다.<sup>151,171</sup> 따라서 비소와 크롬에 의한 CF의 형성이 프리라디칼의 생성에 대한 영향뿐만 아니라 항산화 효소 활성의 억제에 대한 영향등 모두를 고려할 수 있다. 이러한 측면은 본 연구에서 셀레늄의 투여로 비소와 크롬에 의해 증가된 염색체와 SCE의 빈도가 감소되는 것으로도 확인할 수 있는데 이는 GPX의 필수 구성 성분인 셀레늄에 의한 GPX 활성의 증가에 기인한다. 따라서 셀레늄의 이러한 효과는 비소나 크롬에 의해 형성된 CF에 의한 산화적 스트레스를 감소시킴으로써 SCE를 비롯한 염색체 이상을 감소시키는 것으로 항산화적 역할에 기인한다고 사료된다.

본 연구에서 셀레늄은 비소와 크롬에 의한 염색체 이상 빈도를 감소시켰다 그러나 크롬을 대상으로 한 실험에서는 셀레늄을 낮은 농도(30 μM)로 처리했을 때가 높은 농도(50 μM)로 처리했을 때 보다 더 큰 감소효과를 볼 수 있었다. 이는 비소와 크롬에 의해 형성된 CF에 의한 산화적 스트레스의 생성 정도의 차이와 CF에 의한 GPX의 활성에 대한 영향 유무의 차이에 기인하는 것으로 추측된다. 이러한 점은

As가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>을 제거시키는 glutathione peroxidase (GPX)활성등을 유의하게 감소시킨다는 연구 결과에 의해 추론될 수 있다.<sup>15,16)</sup> 또 다른 측면을 고려하면 최대의 GPX활성을 위해 이용된 필요이상의 셀레늄 독성을 들 수 있는데, 실제로 셀레늄 자체 역시 염색체의 이상을 비롯하여 DNA에 상해를 유발하는 것으로 여러 연구를 통해 확인되었다.<sup>24)</sup> 따라서 독성물질에 의한 산화적 스트레스에 있어서 셀레늄의 효과를 위한 응용위해서는 이러한 셀레늄의 긍정적과 부정적인 측면을 신중히 고려할 필요가 있겠다.

## V. 결 론

자유라디칼을 생성하여 세포에 산화적 손상을 유발하는 비소 및 크롬의 중금속을 CHO 세포에 처리시 관찰되는 세포독성에 대하여 셀레늄이 미치는 효과를 조사하였으며 또한 그 작용기전을 추정해보았다.

1. 셀레늄은 비소에 의해 유발된 염색체 이상빈도를 감소시켰다.

2. 셀레늄은 비소와 크롬 각각의 배양추출물(CF 포함)에 의한 자매염색체 교환빈도를 모두 감소시켰다. 셀레늄 동일농도(50 μM)에서의 감소효과는 크롬보다 비소에서 크게 나타났으며 크롬의 경우는 30 μM 셀레늄 처리시의 감소효과가 50 μM 셀레늄 처리시보다 더 크게 나타났다.

3. 셀레늄은 비소에 의한 지질과산화(MDA 생성) 유발 정도를 감소시켰다.

위의 결과들로부터 중금속에 의한 산화적 손상에 대하여 셀레늄이 보호효과를 나타냈다는 사실은 논란중인 셀레늄의 여러 가지 작용기전들중에서의 항산화적인 역할에 대한 중요성과 중금속 노출 유해환경에서의 셀레늄에 대한 예방전략의 가능성을 시사하고있다.

## 감사의 글

본 논문은 1996년도 산업보건연구원의 연구비 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다

## 참고문헌

- 1) Yu, B.P.: Antioxidant action of dietary restriction in the aging process. *J. Nut. Vitaminol.*, 39, Suppl:S75-S83, 1993.
- 2) Schwarz, K. and C.M. Foltz: Selenium as an in-

tegral part of Factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 3292-3293, 1957.

- 3) Rotruck, J.T., H.E. Ganther, A. Swanson, D.G. Hafeman and W.G. Hoekstra: Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179, 588-590, 1973.
- 4) Xiaoshu, C. and G.E. Keyou: Studies on the relations of selenium and Keshan disease. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2, 91-107, 1980.
- 5) Mary, O., Amdur, J. Doull, and C. Klaassen: *Casarett and Doull's Toxicology* 4th, 658-660, 1992.
- 6) Moore M.M., K. Harrington-Brock and C.L. Dorr: Relative genotoxic potency of arsenic and its methylated metabolites. *Mutat. Res.* 386(3), 279-290, 1997.
- 7) Douglas, G.R., R.D. Bell, C.E. Grant, J.M. Wytsma, and K.C. Bora: Effect of lead chromate on chromosome aberration, sister-chromatid exchange and DNA damage in mammalian cells in vitro. *Mutat. Res.* 77(2), 157-163, 1980.
- 8) Costa, M.: Molecular targets of nickel and chromium in human and experimental systems. *Scand. J. Work. Environ. Health.*, 19 suppl 1, 71-74, 1993.
- 9) Friedman, J. F. Shabatai, L.S. Levy and M. Djaldetti: Chromium chloride induces chromosomal aberrations in human lymphocytes via indirect action. *Mutat. Res.*, 191(3-4), 207-210, 1987.
- 10) Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge, : Review article: Oxygen toxicity, oxygen radical, transition metals and disease. *Biochem. J.*, 219, 1-14, 1984.
- 11) Chung, H.W., H.S. Kee, Y.C. Park, J.H. Han and I. J. Yu: Mechanism of Arsenic-induced cytotoxicity in CHO cells. *Environ. Mutagen & Carcinogen.* 16(2), 117-123, 1996.
- 12) Kee, H.S., E.H. Sohn, I.J. Yu, S.H. Maeng and H. W. Chung: Chromium-induced cytotoxicity in CHO cells. *Kor. J. Env. Hlth. Soc.*, 22(4), 77-81, 1996.
- 13) Emerit, I. and P.A. Cerutti: Tumor promoter phorbol-12-myristate-13-acetate induces a clastogenic factor in human lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 79, 7509-7513, 1982.
- 14) Martha, S., M. Sandy, R. Peter and T.S. Martyn: Role of redox cycling and lipid peroxidation in bipyridyl herbicide cytotoxicity. *Biochem. Pharmacol.*, 35, 3095-3101, 1986.
- 15) Lee, T.C. and I.C. Ho: Modulation of cellular antioxidant defense activities by sodium arsenite in human fibroblasts. *Arch Toxicol.* 69(7), 498-504, 1995.
- 16) Wang, T.S. and H. Huang: Active oxygen species are involved in the induction of micronuclei by ar-

- senite in XRS-5 cells. *Mutagenesis*, 9(3), 253-257, 1994.
- 17) Oya-Ohta, Y., T. Kaise and T. Ochi : Induction of chromosomal aberration in cultured human fibroblasts by inorganic and organic argenic compounds and the different roles of glutathione in such induction. *Mutat. Res.* 357(1-2), 123-129.
  - 18) Beilstein, M.A. and P.D. Whanger : Glutathione peroxidase activity and chemical forms of selenium in tissue of rats given selenite or selenomethionine. *J. Inorg. Biochem.*, 33, 31-46, 1988.
  - 19) Huang, H., C.F. Huang, J.S. Huang, T.C. Wang and K.Y. Jan : The transition from late G1 to early S phase is most vulnerable to the coclastogenic effect of ultraviolet radiation plus arsenite. *Int. J. Radiat. Biol.*, 61(1), 57-62, 1992.
  - 20) Chung H.W. and H.J. Kim : Mechanism of asbestos induced chromosome aberration in CHO cells. *Korea J. Toxicol.* 11, 117-125, 1995
  - 21) Liu, K.J., X. Shi and N.S. Dalal : Synthesis of Cr(IV)-GSH, its identification and its free hydroxyl radical generation : a model compound for Cr(VI) carcinogenicity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 235(1), 54-58, 1997.
  - 22) Emerit, I. : Membrane-mediated chromosome damage and formation of clastogenic factors. *Membrane Lipid Oxidation Vol. 3*, CRC press, p. 33-43, 1993.
  - 23) Emerit, I., S.H. Khan and H. Esterbauer : Hydroxynonenal, a component of clastogenic factors?. *Free Radical Biology and Medicine*, 10, 371-377, 1991.
  - 24) Moore, F.R., G.A. Urda, G. Krishna and J.C. Theiss : Genotoxicity evaluation of selenium sulfide in *in vivo* and *in vivo/in vitro* micronucleus and chromosome aberration assays. *Mutat. Res.*, 367(1), 33-41, 1996.