

카드뮴독성을 평가하기 위한 방법으로서의 염색체 이상 및 자매염색체 교환

맹 승 희 · 정 해 원

서울대학교 보건대학원

Chromosome Aberration and Sister Chromatid Exchange for the Assessment of Cadmium Toxicity

Seung Hee Maeng · Hai Won Chung

School of Public Health, Seoul National University

ABSTRACT

This study was performed to investigate the applicability of 9 chromosome aberration and sister chromatid exchange analysis for the assessment of cytotoxicity and cytogenetic effects of cadmium.

Induction of chromosome aberration and sister chromatid exchange in CHO-K1 cells and human peripheral lymphocytes by 2 hour-treatment of CdCl₂ with various concentrations was observed in relation to their frequencies and types of aberration.

The frequency of chromosome aberration in CHO cells treated with CdCl₂ at G₁ was increased with dose-dependent manner.

When human peripheral lymphocytes were treated with cadmium at G₀ and harvested at 72 hours there after, the response was dose-dependent and all the aberrations were also chromatid types.

There was no significant increase in frequencies of sister chromatid exchange in both CHO cells and human lymphocytes treated with different concentrations of cadmium. It was suggested that SCE analysis was not a good assessment method for cadmium toxicity.

I. 서 론

발암원이나 돌연변이원이 될 수 있는 환경유해

물질에 대한 효과적인 감식자로 사용되고 있는 생물학적 접근방법은 그리 많이 개발된 것은 아니지만 염색체 이상분석은 돌연변이원 혹은 발암원이 될 수 있는 물질에 대한 효과적인 생물학적 정보

를 제공할 수 있었다.¹⁻⁵⁾

카드뮴과 염색체이상에 대한 연구는 1972년 Shiraish등이 사람의 임파구에서 CdSO₄에 의한 염색체이상을 처음 보고한 이래 소수의 연구자들에 의해 염색체이상에 대한 연구가 이루어져 왔으나, 그 결과들은 서로 논쟁의 여지가 많아 카드뮴이 염색체이상을 유발한다는 보고⁶⁻⁹⁾와 거의 혹은 전혀 유발하지 않는다는 보고^{2,10-13)}가 있어 염색체 이상분석을 카드뮴의 독성과 염색체 손상에 대한 세포유전학적 감식자로 활용하기 위해서는 충분한 증거가 제시되지 못했었다.

자매염색체교환(Sister Chromatid Exchange ; SCE)은 생성되는 그 분자적 기전이 확실히 밝혀 지지는 않았으나 1957년 Taylor등¹⁴⁾이 autoradiography를 이용하여 식물세포에서 처음 보고한 이래 Latt(1973)¹⁵⁾가 BrdU(5-Bromo-2-deoxyuridine)를 이용한 형광염색체법을 사용해 그 방법을 좀더 용이하게 한 후, 1974년 Perry와 Wolff¹⁶⁾가 Giemsa염색법을 도입, SCE를 좀더 효과적으로 관찰할 수 있게 하였다. 이러한 SCE분석은 환경에 폭로될 수 있는 발암원 및 돌연변이 원이 DNA와 상호관련되어 유전적 독성 및 염색체에 미치는 영향에 대해 양-반응관계를 가지고 있다하여 환경유해물질이나 항암물질의 생물학적 검정에 매우 민감한 지표로 사용되어 왔다.¹⁷⁻²¹⁾

그러나 자매염색체교환에 대한 연구는 자외선, 전리방사선, microwave, 초음파 등의 물리적 자극, mitomycin C, benzene, toluene과 같은 화학제에 관해서는 많이 이루어져 왔으나 카드뮴에 대한 연구는 상대적으로 그리 많지 않다.

일반적으로 전리방사선이나 Bleomycin 그리고 각종 제한효소등 세포주기의 어떤 시기에서도 DNA손상을 일으키는 물질(S-phase independent agent)은 용량과 비례해서 SCE를 유발하지 못하기 때문에 다른 물질의 검사방법으로 적당하지 못하다고 알려져²²⁻²⁴⁾ 있지만, 자외선이나 알킬 화물질(alkylating agent)등 세포주기의 S시기 의존적물질(S-dependent agent)은 효과적으로 SCE를 유발하기 때문에 카드뮴이 S시기 의존적으로 작용한다면 SCE법은 카드뮴의 독성을 평가하는데 유용하게 된다.

카드뮴에 의한 염색체이상은 세포주기 중 S시

기 의존적이라는 보고^{8,25)}가 있는 반면 염색체이상의 형태가 염색체형이상도 나타난다는 보고⁹⁾가 있어 합성기 비의존적일 수도 있다는 가능성도 배제할 수 없기 때문에 이 부분도 확인되어야 할 필요가 있다.

즉, Deaven 등²⁶⁾(1980)은 카드뮴이 S시기 의존적으로 작용하지만 자매염색체교환을 유발하지 않는다고 보고하였으며, 황 등²⁶⁾(1990)은 CHO세포를 대상으로 한 실험에서 카드뮴이 염색체이상을 거의 유발하지 않았으나, SCE를 효과적으로 유발한다고 보고하여 아직도 연구자간에 차이가 있음을 알 수 있다.

본 연구의 목적은 CHO세포 및 사람의 임파구에 카드뮴을 농도별로 투여한 후 염색체이상 및 자매염색체교환의 빈도를 조사하여 이들 방법이 카드뮴 독성을 평가하기 위한 방법으로서의 타당성을 비교하는데 있다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에 사용한 세포는 Chinese hamster ovary cell(CHO-K₁세포)과 정상인의 말초혈액임파구이며, CHO세포는 10% 우태아혈청(CSL, FLOW Lab)과 100μg/ml의 streptomycin(HAZLETON)을 포함시킨 Eagle's MEM(minimum essential medium, HAZLETON)배지에 단층배양하였고, 사람임파구는 정상인에서 채취한 신선한 혈액(whole blood)을 우태아혈청과 항생제가 포함된 RPMI 1640(GIBCO)배지에 부유배양하였다. 이들 세포는 5%의 농도로 CO₂가 공급되는 37℃ 항온기에서 배양하였다.

2. 방 법

1) 생존율의 산출

CHO세포를 각 농도별 CdCl₂(1×10⁻⁶M~1×10⁻⁴M)에 2시간 노출시킨 후 Phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)으로 두차례 세척한 다음 각 군마다 200개의 세포를 petri dish(dia 10 cm)에서 9~10일 동안 배양하였다. 생존율은 50개 세포이상인 colony수를 측정하여 대조군에 대한 백분율로 계산하였다.

2) 카드뮴농도에 따른 염색체이상 빈도분석

CHO세포의 경우 CdCl₂를 각 농도(1×10⁻⁶M에서 2×10⁻⁵M)별로 투여하고 2시간후 PBS로 두차례 세척한 다음 새로운 배양액을 넣어 22시간 추가배양하며 염색체표본을 작성하였다.

사람임파구의 경우 정상인의 전완정맥에서 채취한 신선한 혈액을 배양액 4.5ml당 혈액 0.5ml을 넣어 사용하였다. CdCl₂는 2×10⁻⁶M에서 1×10⁻⁴M의 농도로 2시간 처리후 PBS로 세척하고 10%의 우태아혈청과 2%의 phytohemagglutinin(PHA)이 첨가된 배양액에 72시간 배양하여 염색체표본을 작성하였다.

염색체표본은 CHO세포의 경우 세포수집 3시간 전에 Colcemid(2×10⁻⁷M)을 처리하고 세포수거후 0.075M KCl용액을 거쳐 100% Methanol에 전고정하고 다시 Carnoy 고정액 (Methanol: Acetic acid = 3:1)에 2회 고정한 후 Giemsa 염색하였다.

사람임파구의 경우는 저장액처리를 37℃에서 10분간 한후 곧바로 Carnoy고정액을 조심스레 처리하되 2회 반복하며, 미리 증류수에 적신 Slide glass에 떨어뜨려 공기건조후 염색하였다.

염색체이상은 각 실험군마다 100개 세포를 관찰하여 분석하였다.

3) 자매염색체교환(Sister Chromatid Exchange : SCE)분석

CdCl₂의 농도 및 처리조건은 상기 염색체이상 분석시와 같이하되 세척후 새로운 배양액과 함께 BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine)를 10 μM농도로 첨가하여 추가배양하는데 배양시간은 2번의 DNA 복제와 세포분열지연을 감안하여 CHO세포는 30시간, 사람임파구는 48시간으로 하였다. 앞서와 같은 방법으로 마련한 표본을 Perry와 wolff (1974)가 제안했던 Fluorescence-Plus-Giemsa (FPG)염색을 실시하였다. 즉 Hoechst 33258 (Bisbenzimidazole)를 Soerenssen의 완충용액(pH 6.8)에 0.5 μg/ml의 농도가 되도록 희석하여 Slide 표본을 20분간 처리한 다음 cover slip을 덮어 56℃에서 black light를 CHO세포는 4분, 사람임파구는 10분간 조사하였다. cover slip을 제거한 다음 Giemsa 염색용액(5% in Soerenssen's buffer)에 20분간 염색하여 관찰하였다.

SCE빈도는 2차중기분열기(Secondary metaphase)세포의 염색체를 각 실험군당 25개씩 관찰하였다.

III. 결 과

1. 카드뮴투여에 따른 세포생존곡선(survival curve)

CHO세포에 카드뮴(CdCl₂)을 농도 1×10⁻⁶M에서 1×10⁻⁵M까지 2시간 투여하여 각 농도에 있어서의 생존율을 산출하였는데 Fig. 1에서 보는 바와같이 1×10⁻⁶M CdCl₂투여군은 60%, 2×10⁻⁶M에서는 38%, 5×10⁻⁶M에서는 24%, 1×10⁻⁵M에서는 13%로 나타나 카드뮴은 농도에 비례하여 CHO세포에 세포독성을 나타내는 것을 알 수 있었다. 또한 카드뮴에의 노출시간을 2시간으로 하였을때 카드뮴농도 약 1×10⁻⁶M에서 생존율이 50%가 된다는 것을 유추할 수 있었다.

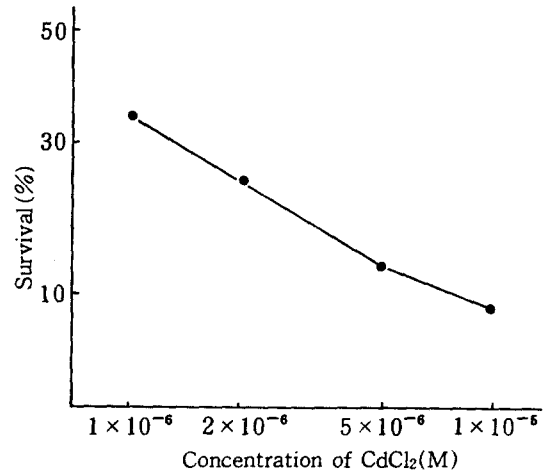


Fig. 1. The survival curve of CHO cells treated with various concentrations of CdCl₂

2. 카드뮴농도에 따른 염색체이상분석

CHO세포의 경우 Fig. 2에서 보는 바와같이 카드뮴농도가 2×10⁻⁵M보다 높았을 때는 카드뮴에 의한 세포독성으로 염색체이상분석을 수행할 수 없었으나, 1×10⁻⁶M에서 2×10⁻⁵M까지 카드뮴농도에 따라 염색체이상의 빈도가 점차 증가하는 경향이였다.

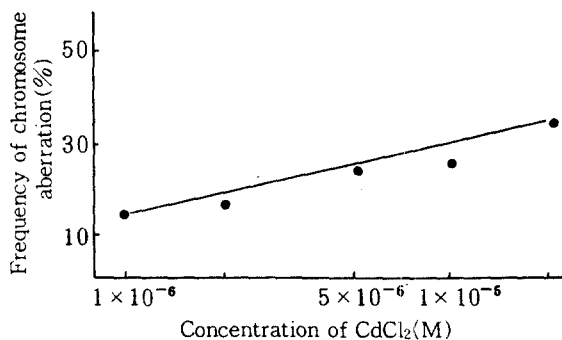


Fig. 2. Frequency of chromosome aberrations in CHO cells induced by CdCl₂ with various concentrations.

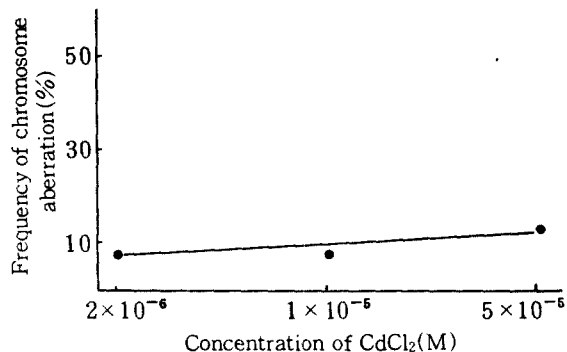


Fig. 3. Frequency of chromosome aberrations in human lymphocytes induced by CdCl₂ with various concentrations.

Table 1. Frequencies of chromosome aberrations induced by CdCl₂ in CHO cells

Concentration of CdCl ₂	% of aberrant cells	Chromatid type			Chromosome type		
		Exchange	Deletion	Total	Exchange	Deletion	Total
Control	4	3	-	3	1	-	1
1 × 10 ⁻⁶ M	15	3	10	13*	2	-	2
2 × 10 ⁻⁶ M	18	6	12	18**	-	-	-
5 × 10 ⁻⁶ M	26	10	16	26**	-	-	-
1 × 10 ⁻⁵ M	28	6	20	26**	2	-	2
2 × 10 ⁻⁵ M	37	15	31	46**	-	-	-

* p<0.001

**p<0.001

Table 2. Frequencies of chromosome aberrations induced by CdCl₂ in human lymphocytes

Concentration of CdCl ₂	% of aberrant cells	Chromatid type			Chromosome type		
		Exchange	Deletion	Total	Exchange	Deletion	Total
Control	2	1	1	2	-	-	-
2 × 10 ⁻⁶ M	8	-	8	8*	-	-	-
1 × 10 ⁻⁵ M	9	1	8	9*	-	-	-
5 × 10 ⁻⁵ M	13	1	12	13**	-	-	-
1 × 10 ⁻⁴ M	6	-	6	6	-	-	-

* p<0.05

**p<0.005

사람의 임파구(Fig. 3)에서도 $5 \times 10^{-5} \text{M}$ 의 농도까지는 카드뮴농도에 따른 염색체이상빈도와와의 비례관계를 나타내고 같은 농도의 카드뮴투여시 CHO세포에서의 염색체이상빈도가 사람의 임파구에서 보다 더 높게 나타나는 양상을 보여주어 사람의 임파구가 카드뮴에 좀 더 큰 내성을 지니

는 것으로 나타났다.

카드뮴에 의한 염색체이상의 형태별 빈도를 보면 Table 1, 2와 같았다. Table 1., Fig. 4에서 보는 바와같이 거의 모두 염색분체형이었는데 특히 결실(deletion)이 많았으며, 염색체형 이상으로 이동원염색체(dicentric chromosome)가 나타났



Fig. 4. Types of chromosome aberration in CHO cells.

1. Chromatid deletion 2. Iso-chromatid deletion
3, 4. Chromatid exchanges

으나 이는 투여된 카드뮴에 의해 유발된 것이라기 보다 CHO세포에 원래 존재할 수 있는 수준의 것으로 세포에서의 염색체 이상은 모두 염색분체형으로 나타났으며 농도가 높아짐에 따라 염색분체

형의 교환(Exchange)과 결실의 빈도가 점차 증가하였다. 사람의 임파구에서는 CHO세포에서와 비슷한 양상이었으나 대체로 염색체이상빈도가 낮게 나타났으며 또한, $1 \times 10^{-4}M$ 에서는 세포독성

에 의한 전체적 세포기능감퇴 및 치사효과로 오히려 그 빈도가 줄어든 것을 볼 수 있었다.

3. 자매염색체교환(SCE)분석

CHO세포에 카드뮴을 $1 \times 10^{-6}M$ 과 $2 \times 10^{-6}M$ 의 농도를 처리한 후 나타나는 자매염색체교환빈도는 Table 3과 같은데, 세포당 대조군에서는 6.92, $1 \times 10^{-6}M$ 에서는 7.08, $2 \times 10^{-6}M$ 에서는 7.55로서 어느 농도에서도 유의한 차이를 보이지 않았으며 ($p > 0.1$), 염색체당 계산된 자매염색체교환빈도에서도 같은 결과였다. $3 \times 10^{-6}M$ 이상의 농도에서는 분열중인 세포의 수도 적고 2차 증기(secondary metaphase)에 있는 염색체가 극히 드물어 SCE를 계수하기가 불가능하였다.

사람임파구에 카드뮴을 $1 \times 10^{-6}M$ 에서 $1 \times 10^{-4}M$ 까지 처리한 후의 결과는 Table 4와 같은데 각 농도별로 유의한 차이를 보이지 않았다($p > 0.5$).

IV. 토 의

1972년 Paton과 Allison¹⁰⁾은 사람의 임파구를 대상으로 $5 \times 10^{-8}M$ 에서 $3 \times 10^{-9}M$ 농도까지의 $CdCl_2$ 를 투여했을 때 유의한 정도의 염색체이상을 보고하지 못했고, 1974년 Leonard등도 카드뮴, 납, 및 아연에 중독된 소의 임파구를 재료로 한 연구에서 부정적인 결과를 내었다. 그러나 Shiraish와 Yosida(1972)⁶⁾는 만성적 카드뮴증상을 나타내는 Itai-Itai 질병을 지닌 환자들로부터 염색체이상을 보고했고, 1976년 Röhr와 Bauchinger⁸⁾는 Chinese hamster Hy세포 $10^{-4}M$ 의 $CdSO_4$ 를 3시간 투여시 유발된 염색체이상을 관찰하였다. Bauchinger등⁷⁾(1976)도 납과 카드뮴에 직업적으로 폭로된 작업자들에게서 긍정적인 결론을 얻었다. 1984년 Ochi⁹⁾들 또한 Chinese hamster V₇₉세포에서 $CdCl_2$ 농도별 염색체이상빈도의 양반응관계를 보고하였으나 같은 실험에서 $CdCl_2$ 를 24시간 지속투여하였을 경우는 중금속에 의해 세포내분자물질의 합성이 저해되어 효과적으로 염색체이상을 관찰하지 못했다고 보고하였다.

Deaven과 Campbell²⁵⁾(1980)은 실험에 사용한 혈청의 종류와 농도가 달라짐에 따라 카드뮴의 세포독성과 염색체이상 정도가 달라짐을 보고하였

Table 3. SCE frequencies induced by $CdCl_2$ in CHO cells

Concentration	No. per cell	No. per chromosome
control	6.92 ± 2.79	0.37
$1 \times 10^{-6}M$	7.08 ± 2.68	0.37
$2 \times 10^{-6}M$	7.55 ± 2.54	0.44

Table 4. SCE frequencies per cell induced by $CdCl_2$ in human lymphocytes

Concentration	No. of SCE
control	4.28 ± 1.12
$2 \times 10^{-6}M$	4.48 ± 1.53
$5 \times 10^{-6}M$	4.04 ± 1.17
$1 \times 10^{-5}M$	4.44 ± 1.54
$5 \times 10^{-5}M$	4.30 ± 1.60
$1 \times 10^{-4}M$	4.13 ± 1.23

는데 즉 혈청내의 단백질과 glutathion이 혼합되어 생성한 disulfide가 Ca^{++} 과 결합하여 독성을 감소시키므로 혈청의 농도가 높아짐에 따라 염색체이상의 유발을 약화시킬 수 있게 된다고 하였으며, Ochi들⁹⁾(1984)의 실험에서도 혈청요인을 제거시킨 HEPES-Hanks완충용액을 사용한 경우에서 10% 우태아혈청을 첨가한 배양액을 사용한 경우보다 염색체이상 발생이 약 2.5~3배가 됨을 보고하였다.

위와같은 여러 연구들로부터 카드뮴에 의한 염색체이상의 유발, 그리고 양반응관계가 긍정적 혹은 부정적으로 보고된 것은 각각에서 선택된 배양 조건 즉 카드뮴의 농도, 투여시간, 고정시간, 혈청의 종류 및 농도 그리고 실험에 선택된 세포의 종류에 따라 다름을 알 수 있는데, 본 실험에서는 CHO세포와 사람의 임파구에서 양반응관계를 관찰할 수 있었고 이는 세포에 따라 그 양상이 다소 상이하였음을 관찰할 수 있었다. 염색체이상분석을 카드뮴에 실제 적용시키기 위해서는 실험실간의 결과들을 토대로 기법들을 표준화해야 할 필요성이 있고 본 연구에서 사용했던 실험절차는 그 결과가 양반응 관계를 나타낸 것으로 보아 카드뮴에 노출된 세포에서의 염색체이상분석은 유전독성평가에 유용하다고 판단된다.

Ochi와 Ohsawa²⁷⁾(1983)는 Chinese hamster

V₇₉세포에서 CdCl₂를 2시간 투여했을 때 생성된 DNA상의 외가닥절단(single strand scission)이 일어남을 alkaline elution technique을 이용해 보고하였으며, alkyl화 물질과 같이 합성시기의존성인 돌연변이원은 세포내의 DNA에서 외가닥절단을 일으키고 이것은 endogeneous nuclease등의 역할로 이중과열(double strand breakage)로 유도되며 DNA가 복제됨에 따라 다음 중기(meta-phase)에서 염색분체형의 염색체이상을 나타낸다는 보고가 있었으며,^{28~30)} Röhr와 Bauchinger(1976)는 CdSO₄에 의해 염색체이상을 유발할 것이라 추측한 바 있었다.

CHO세포의 세포주기는 카드뮴처리에 의해 지연된다는 것이 알려져 있으며 본 실험에서도 지연현상에 따른 최저염색체이상분석 시기를 결정하기 위해 카드뮴투여후 배양시간을 3시간에서 22시간으로 달리한 결과 카드뮴처리후 22시간에서 가장 높은 빈도의 염색체이상을 나타내어 Ochi등(1984)의 경우와 일치된 결과를 보여주었다.

그러나 Ochi등(1989)⁹⁾은 카드뮴투여후 22시간 배양한 결과에서 높은 농도의 카드뮴을 투여한 경우 염색체형의 이상이 나타남을 보고하여 카드뮴에 대한 염색체이상이 합성기의존적일 가능성도 시사하였으나 본 실험에서 관찰된 결과는 모두가 염색분체형 이상으로 나타나 합성기의존성을 확인할 수 있었다.

자매염색체교환(SCE)분석은 세포분열중 DNA복제시 thymidine 염기위치에 그 유도체인 BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine)를 대치시켜 DNA나 선구조의 한가닥은 BrdU가 위치하게 되고 다른 하나는 thymidine을 그대로 갖게하여 2차분열이 시작하면 한쪽 염색분체는 DNA나선의 한가닥만 BrdU를 갖고 이의 자매염색분체는 두가닥 모두 BrdU로 대치되어 형광염료 및 Giemsa용액에 염색되지 않게 함으로써 자매염색체교환이 일어났는지를 확인하게 해준다.^{17,31)}

본 실험결과에서 보면 CHO세포와 사람임파구를 대상으로 카드뮴을 2시간 동안 농도별로 투여한 경우 두세포 모두에서 SCE빈도는 대조군에 비해 유의한 차이가 없었다.

SCE분석시 세포배양에 첨가되는 BrdU농도와

사용된 혈액량에 따라 SCE빈도가 달라지고, 유사분열촉진제인 phytohemagglutinin(PHA)의 농도에 의해서도 영향을 받는다는 보고들이 있었으며,^{32,33)} Soper³⁴⁾등 및 Hedner등³⁵⁾(1982)에 따르면 혈액기증자간의 SCE의 기준수도 차이가 있을 수 있다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 SCE분석시 BrdU의 농도, 혈액량 및 PHA의 농도등 실험조건을 기존의 문헌에 가장 빈번히 쓰였던 조건과 거의 동일하게 하였기 때문에 이러한 가능성은 배제할 수 있었다.

본 실험결과는 환경에 폭로되었을 때의 말초혈액내 임파구는 분열하지 않는 상태임을 감안하여 G₀시기의 임파구에 카드뮴을 처리한 결과로서, 사람의 임파구와 CHO세포를 G₁시기에 방사선을 조사시켰을 때 유의한 수준의 SCE빈도가 증가되었다는 보고³⁶⁾와 BrdU를 첨가시키지 않고 G₀시기에 방사선을 조사시킨 사람의 임파구에서 SCE가 증가하지 않았다는 보고²³⁾와 비교할 때 카드뮴을 처리한 시기 및 세포의 종류에 따른 차이가 있음을 알 수 있다.

Renault³⁷⁾에 따르면 Chinese hamster V₇₉세포를 세포주기의 여러 단계에서 X선을 조사해 본 결과 BrdU를 세포주기의 첫번째 합성기에 투여했을 때 첫번째와 두번째 G₁기 사이에서 SCE가 2배 증가된다고 하였지만 CHO세포를 이용하여 카드뮴처리후 SCE를 분석한 보고는 거의 찾아볼 수 없었으며 Deaven과 Campbell²⁵⁾(1980)이 카드뮴에 대한 SCE빈도가 유의하지 않았다고 언급함으로써 CHO세포를 이용한 본 연구결과와 같은 보고를 하였다.

Gehart(1981)는 돌연변이원에 의해 유발되었던 염색체이상과 SCE에 관한 기존자료들을 양적, 질적으로 비교해 본 결과 두 방법은 분자구조적 형성기작이 서로 상이함을 지적하였고 SCE법은 염색체이상 분석법을 대신하기 보다는 오히려 추가검정법으로 그 가치가 있다 하였다.

본 연구에서도 카드뮴에 의한 염색체 이상과 SCE분석결과 이 두 방법은 서로 상관성을 갖지 않음을 확인할 수 있었으며 SCE분석은 카드뮴에 대한 세포독성평가에는 적당하지 않음을 알 수 있었다.

V. 요약 및 결론

동물세포인 CHO세포 혹은 사람의 말초혈액내의 임파구를 대상으로 카드뮴($CdCl_2$)을 농도별로 2시간 투여함으로써 세포생존율을 산출하고 염색체이상과 자매염색체교환(SCE)의 유발 및 그 양반응관계를 관찰하고 또한 카드뮴에 있어서의 두 방법의 상관성유무를 확인하였다.

1. CHO세포에 카드뮴($CdCl_2$)을 농도 1×10^{-6} M에서 60%, 2×10^{-6} M에서 38%, 5×10^{-6} M에서 24%, 1×10^{-5} M에서 13%로 카드뮴의 농도에 비례하여 세포독성을 나타내었다.

2. 염색체이상 분석결과 CHO세포는 투여되는 카드뮴($CdCl_2$)의 농도(1×10^{-6} M에서 2×10^{-5} M)에 따라 그 빈도가 비례적으로 증가하였고, 사람의 임파구의 경우는 1×10^{-6} M에서 5×10^{-5} M까지는 비례적으로 증가하는 1×10^{-4} M에서는 높은 세포독성에 의한 세포치사효과 때문에 오히려 줄었다. 염색체이상의 형태는 거의 모두 염색분체형이었다.

3. 자매염색체 교환분석결과 CHO세포와 사람의 임파구 모두에서 카드뮴($CdCl_2$)에 의해 유도되는 SCE빈도는 대조군의 것과 유의한 차이가 없었다. 앞서의 염색체이상의 결과와 연관시켜볼 때 염색체이상 분석과 비교할 때 SCE분석은 카드뮴에 의한 세포독성을 평가하기에는 적당하지 않았다.

참 고 문 헌

- 1) Savage, R.K. : Chromosomal aberrations as tests for mutagenicity. *Nature* 258, 103~105, 1975.
- 2) Umeda, M. and M. Nishimura. Inducibility of chromosomal aberrations by metal compounds in cultured mammalian cells.
- 3) Degraeve, N : Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. *Mutation Res.* 86, 115~135, 1981.
- 4) Bauchinger, M., E. Schmid, J. Dresp, J. Kolin-Gerresheim, R. Hauf and E. Sihr : Chromosome changes in lymphocytes after occupational exposure to toluene. *Mutation Res.* 102, 439~445, 1982.
- 5) Degrassi, F., G. Fabri, F. Palitti, A. Paoletti, R. Ricordy and C. Tanzarella : Biological monitoring of workers in the rubber industry. I. Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges in lymphocytes of vulcanizers. *Mutation Res.* 138, 99~103, 1984.
- 6) Shiraiishi, Y., H. Kurahashi and T. Yosida : Chromosome aberrations in cultured human lymphocytes induced by cadmium sulfide. *Proc. Jpn. Acad.* 48, 133~137, 1972.
- 7) Bauchinger, M., E. Schmid, H.J. Einbrodt and J. Dresp : Chromosome aberrations in lymphocytes after occupational exposure to lead and cadmium. *Mutation Res.* 40, 57~62, 1976.
- 8) Rohr, G. and M. Bauchinger : Chromosome analysis in cell cultures of the Chinese hamster after application of cadmium sulphate. *Mutation Res.* 40, 125~130, 1976.
- 9) Ochi, T., M. Mogi, M. Watanabe and M. Ohsawa : Induction of chromosomal aberrations in cultured Chinese hamster cells by short-term treatment with cadmium chloride. *Mutation Res.* 137, 103~109, 1984.
- 10) Paton, G.R. and A.C. Allison : Chromosome damage in human cell cultures induced by metal salts. *Mutation Res.* 16, 332~336, 1972.
- 11) Leonard, A., G. Deknudt and M. Debackere : Cytogenetic investigations on leukocytes of cattle intoxicated with heavy metals. *Toxicology* 2, 269~273, 1974.
- 12) Bui, T.H., J. Lindsten and G. Nordberg : Chromosome analysis of lymphocytes from cadmium workers and Itai-Itai patients.

- Environ. Res. 9, 187~195, 1975.
- 13) Deknuddt, G : Mutagenicity of heavy metals. Mutation Res. 53, 176, 1978.
 - 14) Taylor, J.H, P.S. Woods and W.L. Hughes : The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labelled thymidine. Proc. Nat. Acad. Sci. 43, 122, 1957.
 - 15) Latt, S.A. : Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication human metaphase chromosomes. Proc. Nat. Acad. Sci. 70, 3395~3399, 1973.
 - 16) Perry, P. and S. Wolff. New Giemsa method for the differential staining chromatids. Nature 251, 156~158, 1974.
 - 17) Perry, P. and H.J. Evans : Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. Nature 258, 121~124, 1975.
 - 18) Carrano, A.V., L.H. Thompson, P.A. Lindl and J.L. Minkler : Sister chromatid exchange as an indicator of mutagenesis. Nature.
 - 19) Gundy, S., L. Vagra and M.A. Bender : Sister chromatid exchange frequency in human lymphocytes exposed to ionizing radiation
 - 20) Stella, M., L. Trevisan, A. Montaldi, G. Zaccaria, G. Rossi, V. Bianchi and A.G. Levis : Induction of sister-chromatid exchanges in human lymphocytes exposed *in vitro* and *in vivo* to therapeutic ultrasound. Mutation Res. 138, 75~85, 1984.
 - 21) Moquet, J.E., D.C. Lloyd, J.S. Prosser and A.A. Edwards : Sister chromatid exchanges induced by mitomycin C after exposure of human lymphocytes in G₀ to a low does of X-radiation. Mutation Res. 176, 143~146, 1987.
 - 22) Gebhart, E., and H. Kappauf : Bleomycin and sister chromatid exchange in human lymphocyte chromosomes, Mutation Res. 58, 121~124, 1978.
 - 23) Morgan and P.E. Crossen : X irradiation and sister chromatid exchange in human lymphocyte, Environ Mutagen. 2, 149~155, 1880.
 - 24) Morgan, W.F., H. W. Chung, J. W. Phillips and R.A. wineger : Restriction endonucleases do not induce sister-chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells, Mutation Res. 226, 203~209, 1989.
 - 25) Deaven, L.L. and E.W. Campbell : Factors affecting the induction of chromosomal aberrations by cadmium in Chinese hamster cells. Cytogenet. Cell Genet. 26, 251~260, 1980.
 - 26) 황인경, 김돈균 : Chinese hamster ovary K₁ 세포의 자매염색분체 교환에 미치는 카드뮴 영향에 관한 연구, 예방의학회지, 23(2), 178~184, 1990.
 - 27) Ochi, T. and M. Ohsawa : Induction of 6-thioguanine-resistant mutants and single-strand scission of DNA by cadmium chloride in cultured Chinese hamster cells. Mutation Res. 111, 69~78, 1983.
 - 28) Bender, M.A., H.G. Griggs and J.S. Bedford : Mechanisms of chromosomal aberration production. III. Chemical and ionizing radiation, Mutation Res. 23, 197~212, 1974.
 - 29) Natarajan, A.T., G. Obe, A.A. van Zeeland, F. Palitti, M. Meijers and E.A.M. Verdegaal-Immerzeel : Molecular Mechanisms involved in the production of chromosomal aberrations. II. Utilization of Neurospore endonuclease for the study of aberration production in G₁ and G₂ stages of cell cycle. Mutation Res. 69, 293~305, 1980.
 - 30) Kihlman, B.A. and A.T. Natarajan : Potentiation of chromosomal alterations by inhibitors of DNA repair. In : DNA repair

- and its inhibition. Edited by A. Collins, C. S. Downs and R.T. Johnson, Nucleic acid and symposium series No. 13, IRL Press, 1984.
- 31) Sideris, E.G., A. Tsolomyty, P. Pialoglou, E. Vitsa and S. Charalambous : A simplified procedure for the observation in situ of chromosome aberrations or sister chromatid exchanges and the estimation of the mitotic index in mammalian monolayer cell cultures. *Stain Technol.* 59, 187~192, 1984.
- 32) Davidson, R.L., E.R. Kaufman, C.P. Dougherty, A.M. Ouellette, C.M. DiFolco and S.A. Latt : Induction of sister chromatid exchanges by BrdU is largely independent of the BrdU content of DNA. *Nature* 284, 74~76, 1980.
- 33) Becker, R. and A.A. Sandberg : Sister chromatid exchange levels and cell cycle time in human bone marrow cells and lymphocytes. *Cancer Genet. Cytogenet.* 11, 19~23, 1984.
- 34) Soper, K.A., P.D. Stolley, S.M. Gallo-way, J.G. Smith, W.W. Nichols and S.R. Wohman : Sister chromatid exchange (SCE) report on control subjects in a study of occupational exposed workers. *Mutation Res.* 129, 77~88, 1984.
- 35) Hedner, K., B. Hogstedt, A. Kolnig, E. Mark-Vendel, B. Strombeck and F. Mitelmann : Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in relation to age and sex. *Hum. Genet.* 62, 305~309, 1982.
- 36) Solomon, E. and M. Bobrow : Sister chromatid exchanges-a sensitive assay of agents damaging human chromosomes. *Mutation Res.* 30, 273~278, 1975.
- 37) Renault, G., A. Gentil and I. Chouroulinkov : Kinetics of induction of sister-chromatid exchanges by X-rays through two cell cycles. *Mutation Res.* 94, 359~368, 1982.
- 38) Gehart, E : Sister chromatid exchange (SCE) and structural chromosome aberration in mutagenicity testing. *Hum. Genet.* 58, 235~254, 1981.