



광염색체이상시험의 광발암성 예측능력에 대한 평가

홍미영 · 김지영 · 이영미 · 이미가엘

한국화학연구원 부설 안전성평가연구소 유전독성실

Assessment of Sensitivity of Photo-Chromosomal Assay in the Prediction of Photo-carcinogenicity

Mi-Young Hong, Ji-Young Kim, Young Mi Lee and Michael Lee

Laboratory of Genetic Toxicology, Korea Institute of Toxicology, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P.O. Box 123, Yusong, Daejeon 305-600, Republic of Korea

Received April 13, 2005; Accepted May 23, 2005

ABSTRACT. Photo-mutagenic compounds have been known to alter skin cancer rates by acting as initiators or by affecting subsequent steps in carcinogenesis. The objectives of this study are to investigate the utility of photo-chromosomal aberration (photo-CA) assay for detecting photo-clastogens, and to evaluate its ability to predict rodent photocarcinogenicity. Photo-CA assay was performed with five test substances that demonstrated positive results in photo-carcinogenicity tests: 8-Methoxypsoralen (photoactive substance that forms DNA adducts in the presence of ultraviolet A irradiation), chlorpromazine (an aliphatic phenothiazine an alpha-adrenergic blocking agent), lomefloxacin (an antibiotic in a class of drugs called fluoroquinolones), anthracene (a tricyclic aromatic hydrocarbon a basic substance for production of anthraquinone, dyes, pigments, insecticides, wood preservatives and coating materials) and Retinoic acid (a retinoid compound closely related to vitamin A). For the best discrimination between the test substance-mediated genotoxicity and the undesirable genotoxicity caused by direct DNA absorption, a UV dose-response of the cells in the absence of the test substances was firstly analyzed. All 5 test substances showed a positive outcome in photo-CA assay, indicating that the photo-CA test is very sensitive to the photo-genotoxic effect of UV irradiation. With this limited data-set, an investigation into the predictive value of this photo-CA test for determining the photo-carcinogenicity showed that photo-CA assay has the high ability of a test to predict carcinogenicity. Therefore, the photo-CA test using mammalian cells seems to be a sensitive method to evaluate the photo-carcinogenic potential of new compounds.

Keywords: Photo-CA Assay, Photo-carcinogenicity, Genotoxicity.

서 론

오늘날의 인간생활은 자외선 노출과 밀접한 관계를 맺고 있고 또한 자외선에 의한 발암유발도 널리 알려져 있다. 특히, 290~320 nm 파장의 UVB가 발암에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 반면 320~340 nm 파장범위의 UVA는 활성산소를 생성시킬 수 있는 photosensitizer를

활성화시켜서 DNA에 손상을 주는 것으로 보고되고 있다 (Brendler-Schwaab *et al.*, 2004). Photosensitizer로서 작용하는 것으로 알려진 의약품 중 phenothiazines과 furocoumarins, fluoroquinolones 등은 배양중인 세포에서 염색체이상을 유발하는 것으로 나타났다(Chetlat *et al.*, 1996). 더구나 hairless mice를 이용한 광발암시험 결과 furocoumarin 및 fluoroquinolone계열 화학물질들이 자외선에 의한 피부암 유발을 촉진시킨다는 것을 확인하였다(Kelly-Garvert and Legator, 1973; Nagayo *et al.*, 1983; Stern *et al.*, 1979). 이러한 결과들은 광유전 독성시험과 광발암성 사이에 높은 상관관계가 있음을 시

Correspondence to: Michael Lee, Laboratory of Genetic Toxicology, Korea Institute of Toxicology, Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 123, Yusong, Daejeon 305-600, Republic of Korea
E-mail: mikelee@kitox.re.kr

사한다. 특히, 광발암성시험은 많은 동물을 필요로 하고 오랜 시간이 소요되기 때문에 자외선 조사 후 DNA 손상 여부를 측정하는 광유전독성시험법에 대한 필요성이 크게 대두되고 있다.

화학물질을 비롯하여 화장품, 의약품 등에 대한 clastogenicity의 측정은 독성평가에 있어서 중요한 부분중의 하나이다. 지난 십여년간 많은 물질들이 자외선 또는 가시광선등에 의해서 clastogen으로 전환될 수 있다는 보고가 있었다(Itoh *et al.*, 2002; Kelly-Garvert and Legator, 1973). 따라서, photo-clastogenicity의 측정이 광발암성 평가에 있어서 중요한 역할을 할 가능성이 제기되고 있다(Gocke *et al.*, 2000; Muller and Kasper, 1998). Photo-clastogenicity를 측정하기 위한 광염색체이상 시험방법에 대해서 일부 연구가 진행되고 있으나(Dean *et al.*, 1991; Itoh *et al.*, 2002; Murli *et al.*, 2002), 연구자에 따라 다른 세포를 사용하여 다른 시험법으로 시험을 수행했기 때문에 광염색체이상시험에 대한 표준시험법이 없는 실정이다. 현재까지 가장 널리 사용된 세포주는 CHO나 CHL 등의 Chinese Hamster fibroblasts이지만 photo-clastogenicity 결과는 사용된 세포주와는 크게 상관이 없는 것으로 나타났다.

따라서, 본 연구에서는 광발암성이 보고되거나 의심되어지는 8-methoxypsoralen(자외선 조사시 DNA adduct 형성)과 chlorpromazine(α -adrenergic 저해제), lomefloxacin(fluoroquinolones 계열의 항생제), anthracene(염색약, 색소, 살충제등의 기본 성분), retinoic acid(vitamine A 유사물질) 등의 5개의 물질을 사용하여 광염색체 이상 시험법을 평가하고자 하였다. UV 조사를 위해서는 Vilber Lourmat사(Marne Valle, France)에서 구입한 RMX-3W Radiometer를 사용하였다. 예비시험을 통하여 UV 자체에 의한 세포독성이나 유전독성을 유발하지 않는 자외선 조사조건을 결정한 후에 수행하였다. 광염색체 이상 시험결과 5개의 시험물질 모두 양성으로서 광발암성 결과와의 상관성이 매우 높은 것으로 나타났다.

실험재료 및 방법

시험물질

Retinoic acid(CAS# 302-79-4)와 lomefloxacin (CAS# 98079-51-7), chlorpromazine(CAS# 69-09-0), anthracene(CAS# 120-12-7), 8-methoxypsoralene(CAS# 298-81-7)의 5가지 물질이 본 연구에서 photo-Chromosomal Aberration 시험을 위하여 사용되었다. 모든 시험물질은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO)에서 구입하였다. Fetal bovine serum(FBS)을 비롯하여 Minimum Essential

Medium 배지 등 세포배양에 필요한 시약은 GIBCO-Invitrogen(Carlsbad, CA)에서 구입하였다.

세포배양

Chinese Hamster Lung (CHL)(Koyama *et al.*, 1970) 세포는 2004년 American Type Culture Collection (Manassas, VA)로부터 분양을 받았다. 본 세포의 염색체 수(modal chromosome number)는 25, 분열주기는 12~15시간으로 확인되었다. 액체질소에 보관한 세포를 해동하여 7일 이상 계대배양한 후 현미경으로 미생물 오염 여부를 확인하고 시험에 사용하였다. 세포는 포화수증기와 이산화탄소 농도 5%를 유지하는 37°C 항온배양기에서 세포배양용 플라스크를 사용하여 단층배양하였으며 매 2~3일 마다 0.05% 트립신액으로 세포를 분리하여 10% FBS를 포함하는 Minimum Essential Medium에서 계대배양하였다.

자외선 조사조건

자외선 조사를 위해서는 Vilber Lourmat 40 W black-light lamp($\lambda_{max} = 365 \text{ nm}$)(Vilber Lourmat, Marne la Valle, France)가 사용되었고, UVA와 UVB doses는 UVA sensor(spectral range 315~400 nm)와 UVB sensor(spectral range 280~315 nm)가 장착되어 있는 Radiometer RM-21(Dr. Grbel UV-Elektronik GmbH, Ettlingen, Germany)를 이용하여 측정하였다.

광염색체이상 시험

CHL 세포는 60 mm dish당 5 ml MEM 배지에 4×10^4 세포수의 농도로 seeding 하고 시험물질 처리전 3일간 배양하였다. 배양배지를 제거하고 phenol-red가 없는 EBSS 5 ml로 배지를 교환해 준 후 UV 조사시까지 시험물질을 1시간 동안 전처리하였다. 이후, RMX-3W Radiometer(Vilber Lourmat, Marne la Valle, France)를 사용하여 UV를 조사하였다. UV 조사 후, PBS로 씻어주고 serum이 포함된 MEM 배지로 교환해 준 후 22시간을 더 배양하였다. 세포수확 2시간 전에는 $1 \mu\text{M}$ colchicine을 처리하였다. trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 분리, 현탁후 수거하여 $150 \times g$ 로 5분간 원심분리해 세포를 모은 다음 75 mM KCl 용액 5 ml을 가하여 10분간 실온에서 저장액 처리하였다. 저장액 처리 후 고정액(메틸알콜 : 빙초산 = 3 : 1 v/v) 5 ml을 기존 75 mM KCl 용액에 혼합하여 20분간 전고정을 실시한 다음 $300 \times g$ 로 원심분리하여 고정액을 2회 교환해 준 후 공기건조법으로 검체를 제작하고 3% Giemsa 액으로 염색하였다(Preston *et al.*, 1987). 검체는 각 플라스크 당 2매씩 제작하였으며

염색, 수세, 건조 및 봉입을 마친 검체는 계수시까지 보관 상자에 보관하였다. 각 플라스크당 제작된 검체 중 염색 상태가 양호한 1매씩을 선정하여, 관찰자가 그 내용을 알 수 없도록 코드화 한 후 1000배의 배율로 관찰, 계수하였다. 각 검체당 100개의 분열중기상(23~27 동원체)에 대하여 염색체 수 및 염색체이상의 유무를 관찰하였다. 이상은 염색체형 절단 및 교환과 염색분체형 절단 및 교환으로 대별해 계수하였으며, 이상을 가진 중기상(이상중기상)의 빈도 및 염색체이상의 수는 gap을 포함한 경우와 제외한 경우를 병기하였다.

통계 분석

이상중기상의 빈도에 대한 통계처리는 gap을 제외한 숫자만을 대상으로 실시하였다. 부형제대조군과 시험물질 처리군의 비교시에는 χ^2 -test와 Fisher's exact test를 실시하였고, $P < 0.05$ 인 경우에는 용량상관성이 있는가를 알아보기 위해서 Cochran-Armitage trend test를 적용하였다.

결과의 판정

시험물질 처리군에 있어서 염색체이상을 가진 분열중기상의 수가 통계학적으로 유의성있게 용량의존적으로 증가하거나, 하나 이상의 용량단계에서 재현성있게 양성반응을 나타낼 경우를 양성으로 판정하였다.

결 과

광염색체이상 시험을 위한 자외선 조사조건

염색체이상은 심한 세포독성에 의해서도 유발 될 수 있기 때문에 우선적으로 시험물질을 처리하지 않은 상태에서 자외선 자체에 의해서 세포독성을 유발 하지 않는 자외선 조사조건을 결정하였다. 자외선은 파장에 따라 UVA, UVB 및 UVC가 있지만 UVC는 오존층에 의해서 제거되고 일반적으로 지상에 도달되는 자외선은 UVA와 UVB라고 알려져 있기 때문에(Brendler-Schwaab *et al.*, 2004) UVA와 UVB만을 조사하여 실험을 수행하였다. UVA dose가 0.5, 1, 3 J/cm², 그리고 UVB dose가 각 UVA의 1/100, 1/20, 1/10인 조건하에서 시험을 수행하였다. 시험결과, UVA dose가 3 J/cm²일 경우 세포독성이 크게 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 1, *Top*). 이후, UVA dose가 0.5 및 1 J/cm², 그리고 UVB dose가 각 UVA의 1/100, 1/20, 1/10인 조건하에서 자외선 자체에 의한 염색체이상 유발 빈도를 알아보았다. 시험결과 UVA : UVB relationship이 10 : 1(1 : 0.1 J/cm²)인 조건하에서는 염색체이상이 관찰되었다(Fig. 1, *Bottom*). 따라서, 이러한

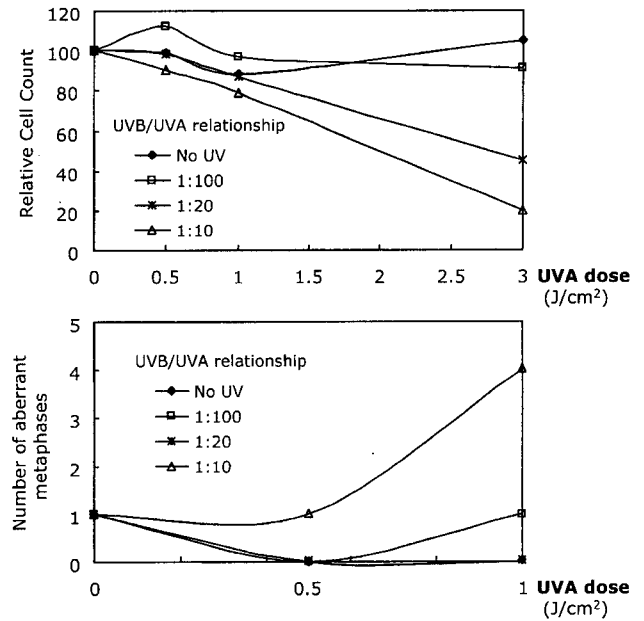


Fig. 1. CHL cells were irradiated with Vilber Lourmat 40 W black-light lamp at different UV doses. Cells were prepared for the Chromosomal aberration assay 22 h after irradiation. *Top*, The Relative Cell Count (RCC) was determined by comparing cell counts in test item and negative control cultures. *Bottom*, The frequency of chromosome aberrations was determined as described in Materials and Methods. Data represent 100 cells/treatment group.

시험결과를 토대로 염색체이상과 세포독성을 유발하지 않는 조건의 UVA : UVB의 비율로서 1 : 0.05 J/cm²(20 : 1)의 조건을 선택하였다. UV 조사 전 세포내에 시험물질이 충분히 들어갈 수 있도록 1시간 동안 세포와 시험물질을 전배양하였다.

광염색체이상시험을 위한 각 시험물질에 대한 용량설정

광염색체이상시험을 위한 시험물질로서 8-Methoxy-

Table 1. Published photo-chromosomal aberration test results and photo-carcinogenicity results for each test substance

Compounds	Photo-Chromosomal Aberration	Photo-Carcinogenicity
8-MOP	Pos ⁽¹⁾	Pos ⁽²⁾
Chlorpromazine	Pos ⁽¹⁾	Pos ⁽³⁾
Lomefloxacin	Pos ⁽⁴⁾	Pos ⁽⁵⁾
Anthracene	N/A	Pos ⁽⁶⁾
Retinoic acid	N/A	Pos ⁽⁷⁾

Pos, positive response; Neg, negative response; N/A, Not Available.

⁽¹⁾(Chetlat *et al.*, 1993), ⁽²⁾(Nagayo *et al.*, 1983), ⁽³⁾(Kelly *et al.*, 1989), ⁽⁴⁾(Chetlat *et al.*, 1996), ⁽⁵⁾(Ball *et al.*, 1999), ⁽⁶⁾(Blackburn and Taussig, 1975), ⁽⁷⁾(Fu *et al.*, 2003)

psoralene(8-MOP)와 Chlorpromazine, Lomefloxacin, anthracene 및 retinoic acid의 5가지 물질을 선택하였다 (Table 1). 시험에 사용한 시험물질 모두 시험자에 따라 결과가 서로 상이하지만 광발암유발 능력을 촉진하는 것으로 알려졌다. 하지만, 광염색체이상 결과는 8-MOP와 Chlorpromazine, Lomefloxacin에 대해서는 양성으로 보고가 되어있고, Anthracene과 Retinoic acid의 경우에는 아직까지 알려진 바가 없는 실정이다. 이러한 5가지 시험물질을 이용하여 광염색체이상시험을 수행하기전에 시험물질에 의한 세포독성을 알아보기 위한 용량설정시험을 수행하였다(Fig. 2). 5가지 시험물질 모두 자외선 조사시 세포독성을 크게 유발시키는 광독성이 있음을 확인하였고, 이를 토대로 세포의 viability가 50~60%인 농도를 광염색체이상시험의 최고농도로 설정하였다. 하지만, anthra-

cene의 경우 5 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서는 심한 침전등으로 인하여 시험이 불가하였으므로 자외선 조사가 없는 경우에는 용해도 한계인 4 $\mu\text{g/ml}$ 을 최고농도로 설정하였다.

각 시험물질에 대한 광유전독성 시험

8-Methoxypsoralene. 자외선 조사시 3.95~8.89 $\mu\text{g/ml}$ 범위에서 aberrant metaphase의 수가 유의성 있게 크게 증가하였다. 처리 최고농도인 8.89 $\mu\text{g/ml}$ 에서의 viability는 54%였다. 자외선을 조사하지 않은 상태에서는 상대적으로 10배에서 20배 정도 높은 고농도범위에서 약하게 aberrant metaphase 수가 증가하였다(Table 2).

Chlorpromazine. 자외선 조사시 0.12 $\mu\text{g/ml}$ 의 낮은 농도에서부터 용량상관성을 가지고 aberrant metaphase 수가 증가하기 시작하여 0.60 $\mu\text{g/ml}$ 의 처리 최고농도에

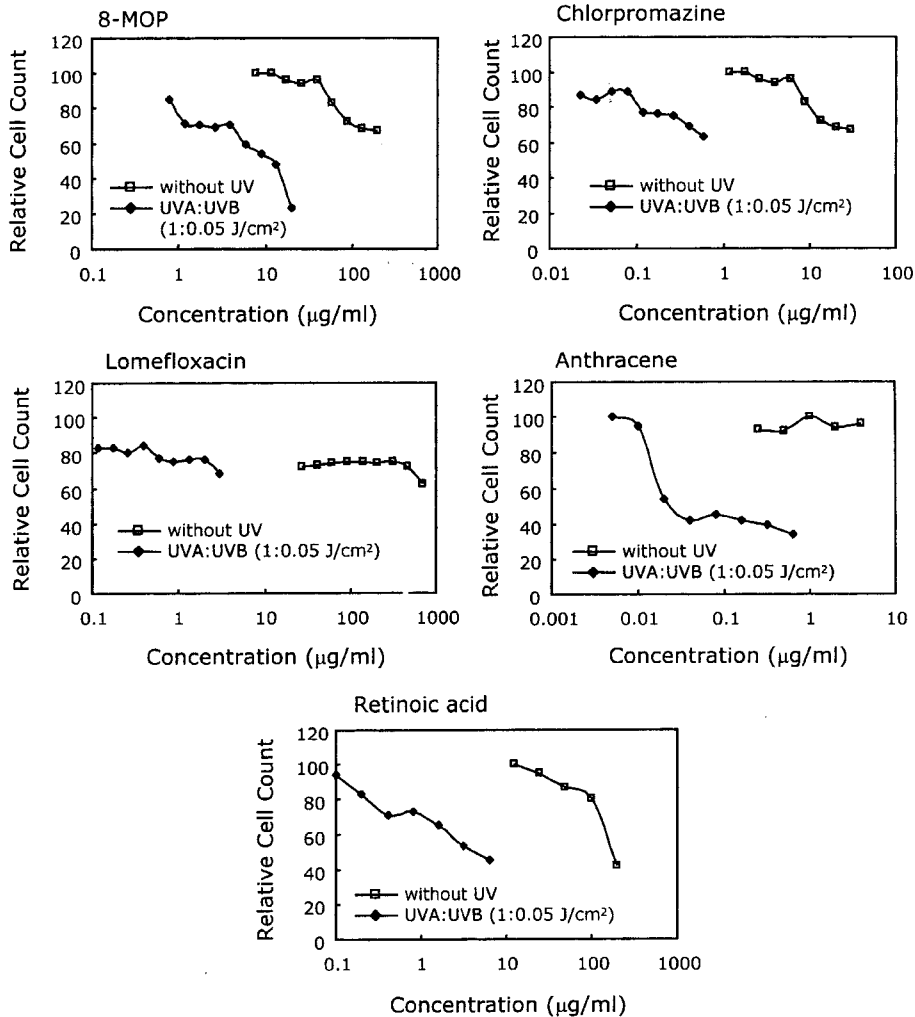


Fig. 2. Photo-cytotoxicity results using CHL cells exposed to each test substance in the presence and in the absence of irradiation from a RMX-3W Radiometer. Cells were prepared for the Chromosomal aberration assay 22 h after irradiation following pre-incubation with test substance. The Relative Cell Count (RCC) was determined by comparing cell counts in test item and negative control cultures.

Table 2. Photo-chromosomal aberration assay

Without			UVUVA : UVB (1 : 0.05 J/cm ²)		
Conc. (μg/ml)	Percentage of aberrant cells	RCC (%) ^{a)}	Con. (μg/ml)	Percentage of aberrant cells	RCC (%)
8-Methoxypsoralen					
0	1/1 ^{b)}	100	0	2/2	100
59.26	4/4	83	3.95	12/9	70
88.89	2/2	72	5.93	12/9	59
133.33	5/5	68	8.89	15/13	54
200	6/4	67	-	-	-
Chlorpromazine					
0	0/0	100	0	1/1	100
5.93	1/1	72	0.12	4/4	77
8.89	3/1	76	0.18	8/4	76
13.33	1/1	69	0.27	7/4	75
20.00	1/0	61	0.40	8/5	69
30.00	1/1	30	0.60	13/12	63
Lomefloxacin					
0	1/1	100	0	1/0	100
138.27	4/3	75	0.59	6/6	77
207.41	4/4	74	0.89	4/3	75
311.11	3/3	75	1.33	10/9	76
466.67	4/4	72	2.00	10/10	76
700	5/5	62	3.00	8/8	68
Anthracene					
0	1/1	100	0	1/0	100
0.5	0/0	92	0.0025	0/0	104
1	2/2	100	0.005	3/3	100
2	1/1	94	0.01	2/2	95
4	1/1	96	0.02	6/6	54
-	-	-	0.04	10/10	42
Retinoic acid					
0	2/1	100	0	0/0	100
12.5	3/2	100	0.2	1/0	83
25	1/0	95	0.4	2/2	71
50	2/2	87	0.8	2/2	73
100	2/1	80	1.6	5/5	65
200	6/6	42	3.2	4/3	53

^{a)}RCC, Relative Cell Count.

$$\text{Relative Cell counts} = \frac{\text{Cell counts of treated flask}}{\text{Cell counts of control flask}} \times 100$$

^{b)}Gaps included/excluded; 100 metaphases were examined per concentration.

서는 aberrant metaphase가 12%였다. 반대로 자외선을 조사하지 않은 경우에는 30%의 viability를 보여주는 30 μg/ml 농도까지 aberrant metaphase 수가 증가하지 않았다(Table 2).

Lomefloxacin. 자외선이 없는 조건하에서는 138~700 μg/ml의 농도범위에서 최고 5%의 aberrant metaphase를 유발하였으나 자외선 조사시에는 훨씬 낮은 농도인 0.593 μg/ml 농도범위에서 최고 10%의 aberrant metaphase를 유발하였다(Table 2).

Anthracene. Anthracene의 경우 매우 낮은 농도에서 염색체이상을 유발하였다. 자외선 조사시 0.02~0.04 μg/

Table 3. Relationship between outcome of photo-Chromosomal aberration assay and the reported photo-carcinogenicity results

Assay	Photo-Chromosomal Aberration	
	-	+
Photo-carcinogenicity	-	0
	+	0
Total	0	5
Sensitivity ^{a)}	1.00	

The reported photo-carcinogenicity results of chemical substances were compared with the result from photo-Chromosomal aberration assay.

^{a)}Sensitivity: proportion of carcinogens showing positive results in each genotoxicity test.

ml 농도범위에서 약 50%의 세포독성을 보이면서 aberrant metaphase를 증가시켰다. 반대로 자외선을 조사하지 않은 경우에는 용해도 한계인 4 μg/ml 농도까지 aberrant metaphase 수가 증가하지 않았다(Table 2).

Retinoic acid. Retinoic acid의 경우 자외선 조사시 aberrant metaphase수의 증가가 1.6 μg/ml 농도에서 최고 5% 정도로 다른 4가지 시험물질에 비해서는 약한 편이었다. 자외선이 없는 조건하에서는 200 μg/ml 농도군에서 최고 6%의 aberrant metaphase를 유발하였다(Table 2).

광발암성결과와 광염색체이상 시험결과의 상관관계

비록 5개의 시험물질에 대한 소규모의 결과이긴 하지만, 이 결과를 바탕으로 광염색체이상 시험결과의 광발암성 예측능력에 대한 분석을 하였다(Table 3). 광발암성 예측능력을 평가하기 위한 지표로서 민감도(sensitivity) 값을 구하였다. 민감도는 광발암성을 가진 물질이 광유전독성 시험에서 양성으로 판정되는 비율로서 광발암성 예측능력을 위한 지표로 널리 사용되고 있다. 반면, specificity는 비발암물질이 유전독성시험에서 음성으로 판정되는 비율로서 비발암물질 예측능력의 지표로 널리 사용되는데 본 연구에서는 사용한 5가지 시험물질 모두 광발암성이 보고되었기 때문에 specificity 값을 구하질 않았다. 분석결과 광발암성을 가진 5개의 시험물질 모두 광염색체이상 시험에서 양성으로 판정되어서 sensitivity 값은 1.0으로 광발암성과 광염색체이상시험간의 상관관계가 매우 높은 것으로 나타났다.

토 론

많은 compounds가 자외선이나 가시광선 등의 흡수에 의해서 독성물질로 전환되고 이러한 광활성화에 의한 DNA 손상은 피부암의 원인이 될 수 있음이 보고되고 있다(de

Grujil, 1999). 비록, 포유동물 세포가 DNA의 oxidative damage에 대한 복구기작을 가지고는 있지만 과량의 photo-dimer를 비롯한 photoproduct 등이 생성될 경우에 미처 복구되지 못한 손상은 유전자 변이나 염색체이상을 유발 할 수 있는 것으로 사료된다. 따라서, 본 연구에서는 광독성물질의 광발암성 예측을 위한 광유전독성시험의 일환으로서 광염색체이상시험을 확립하고자 하였다.

일반적으로 UVC는 오존층에 의해서 제거되고 UVA와 UVB만이 지상에 도달한다. 또한, UVB는 직접적으로 DNA에 영향을 미칠 수 있기 때문에 UVA만 조사하는 조건하에서 시험을 수행하는 것이 이론적으로는 적합한 것으로 보인다. 하지만, 국제적으로는 미지의 물질에 대한 광유전독성시험시에는 실제 햇빛에 노출되는 것과 유사한 조건하에서 시험을 하는 것을 권장하고 있는 상황이므로 본 연구에서는 UVA/UVB를 동시에 조사하는 조건 하에 시험을 진행하기로 하였다. UVB는 pyrimidine dimer를 형성하여 염기쌍치환형(주로 GC → AT) 돌연변이를 유발 할 수 있고(Brash *et al.*, 1991), UVA는 DNA에 손상을 주는 활성산소 생성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다(Loveday, 1996). 우선적으로 예비시험을 통해서 UV 자체에 의해서 세포독성이나 염색체이상이 유발되지 않는 UV 조건을 결정하였다. 시험결과, UVA dose가 3 J/cm² 일 경우 세포독성이 크게 증가하고, UVA dose가 1 J/cm²일 경우라도 UVB를 0.1 J/cm²의 dose로 함께 조사하면 염색체이상이 유발되는 것으로 나타났다. 따라서, 이러한 결과를 바탕으로 세포독성이나 염색체이상을 유발하지 않는 UVA/UVB의 비율이 1/0.05 J/cm²인 조건하에서 시험을 수행하였다. 한편, *in vitro* 광독성시험에 관한 OECD draft guideline에서는 다른 독성시험과 달리 광독성시험에 이용되는 세포주가 대사활성효소계가 거의 없는 피부이기 때문에 간대사활성효소계의 첨가가 의미가 없다고 서술하고 있다(Gocke *et al.*, 2000). 더해서 광유전독성 시험에 대한 화장품의 과학분과위원회에서도 현재의 과학적 지식으로는 대사활성효소계 적용시 시험물질에 대한 햇빛의 효과를 시험하기 위한 적당한 조건을 정의할 수 없기 때문에 대사활성효소계의 적용을 권고하지 않고 있다. 따라서, 본 연구에서는 대사활성효소계 미적용 조건하에서만 시험을 수행하였다.

본 연구에서는 광염색체이상 시험을 위한 시험물질로서 많은 참고문헌 등의 검색을 통해서 hairless mice를 이용한 시험에서 광발암성 결과가 보고되어 있는 5가지 시험물질을 선정하였다. 이중 8-MOP와 chlorpromazine, lomefloxacin의 3가지 시험물질은 광염색체이상시험을 비롯한 광유전독성시험결과가 알려져 있지만(Chetlat *et al.*, 1993, 1996), anthracene과 retinoic acid의 경우에

는 어떠한 광유전독성시험 결과도 보고되어 있지 않았다. 본 연구에서 광유전독성시험결과, 5가지 시험물질 모두 자외선에 노출되지 않았을 경우와 비교해서 자외선 조사시에 훨씬 낮은 농도에서 더 심하게 염색체이상을 유발하는 것으로 나타났다. 반면, 본 실험실에서 기존에 수행된 photo-Ames 시험결과에서는 5가지 시험물질중 8-MOP와 chlorpromazine, lomefloxacin의 3가지 시험물질만이 양성으로 판정되었다(Hong *et al.*, 2005). 이는 일반적인 유전독성시험에서는 Ames 시험결과가 가장 발암성 예측과 상관관계가 높다는 보고와는 상반된 결과로서 자외선에 의한 발암성 유발에는 mutagenicity보다는 clastogenicity가 더 중요하다고 할 수 있겠다.

따라서, 이러한 결과를 토대로 본 연구에서는 광염색체 이상시험 결과가 photo-Ames 시험법 등에 비해서 만족할 만한 광발암성 예측능력을 가지고 있다는 것을 제시할 수 있다. 이 결과는 clastogenic effect를 측정하는 광염색체이상 시험법이 광유전독성 물질의 조기검색에 유리할 수 있다는 보고와 일치한다(Brendler-Schwaab *et al.*, 2004). 하지만, 대상 시험물질의 수가 적어서 그 통계학적 결과에 신뢰성이 없기 때문에 추후 연구에서는 좀 더 많은 시험물질에 대한 광염색체이상 시험 결과에 대한 데이터베이스의 구축과 이를 바탕으로 한 광발암성 예측능력의 비교가 필요한 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소 기본 연구사업의 일환으로 추진되었음.

참고문헌

- Ball, P., Mandell, L. and Toillotson, G. (1999): Comparative tolerability of the newer fluoroquinolone antibacterials. *Drug Saf.*, **21**, 407-421.
- Blackburn, G.M. and Taussig, P.E. (1975): The photocarcinogenicity of anthracene: photochemical binding to deoxyribonucleic acid in tissue culture. *Biochem. J.*, **149**, 289-291.
- Brash, D.E., Rudolph, J.A., Simon, J.A., Lin, A., McKenna, G.J., Baden, H.P., Halperin, A.J. and Ponten, J. (1991): A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 10124-10128.
- Brendler-Schwaab, S., Czich, A., Epe, B., Gocke, E., Kaina, B., Muller, L., Pollet, D. and Utesch, D. (2004): Photochemical genotoxicity : principles and test methods. Report of a GUM task force. *Mutat. Res.*, **566**, 65-91.
- Chetlat, A., Dresp, J.H. and Gocke, E. (1993): Photomutagenicity test development II. 8-Methoxypsoralen, chlorprom-

- azine and sunscreen compounds in chromosomal aberration assay using CHO cells. *Mutat. Res.*, **292**, 251-258.
- Chetlat, A.-A., Albertini, S. and Gocke, E. (1996): The photomutagenicity of fluoroquinolones in tests for gene mutation, chromosomal aberration, gene conversion and DNA breakage (Comet assay). *Mutagenesis*, **11**, 497-504.
- de Gruijl, F.R. (1999): Skin cancer and solar UV radiation. *Eur. J. Cancer*, **35**, 2003-2009.
- Dean, S.W., Lane, M., Dunmore, R.H., Ruddock, S.P., Martin, C.N., Kirkland, D.J. and Loprieno, N. (1991): Development of assays for the detection of photomutagenicity of chemicals during exposure to UV light. I. Assay development. *Mutagenesis*, **6**, 335-341.
- Fu, P.P., Cheng, S.-H., Coop, L., Xia, Q., Culp, S.J., Tolleson, W.H., Warner, W.G. and Howard, P.C. (2003): Photo-reaction, phototoxicity, and photocarcinogenicity of retinoids. *J. Environ. Sci. Health*, **C21**, 165-197.
- Gocke, E., Muller, L., Guzzie, P.J., Brendler-Schwaab, S., Bulera, S., Chignell, C.F., Henderson, L.M., Jacobs, A., Murli, H., Snyder, R.D. and Tanaka, N. (2000): Consideration on photochemical genotoxicity: Report of the international workshop on genotoxicity test procedures working group. *Environ. Mol. Mutagen.*, **35**, 173-184.
- Hong, M.-Y., Kim, J.-Y., Chung, M.K. and Lee, M. (2005): Prediction of photo-carcinogenicity from photo-Ames assay. *Environ. Mutagen Carcinogen*, in press.
- Itoh, S., Nakayama, H. and Shimada, H. (2002): In vitro photochemical clastogenicity of quinolone antibacterial agents studied by a chromosomal aberration test with light irradiation. *Mutat. Res.*, **517**, 113-121.
- Kelly, G.E., Meikle, W.D. and Moore, D.E. (1989): Enhancement of UV-induced skin carcinogenesis by azathioprine: role of photochemical sensitization. *Photochem. Photobiol.*, **49**, 59-65.
- Kelly-Garvert, F. and Legator, M.S. (1973): Photoactivation of chlorpromazine: cytogenetic and mutagenic effects. *Mutat. Res.*, **21**, 101-105.
- Koyama, H., Utakoji, T. and Ono, T. (1970): A new cell line derived from newborn Chinese hamster lung tissue. *GANN*, **61**, 161-167.
- Loveday, K.S. (1996): Interrelationship of photocarcinogenicity, photomutagenicity and phototoxicity. *J. Photochem. Photobiol.*, **63**, 369-372.
- Muller, L. and Kasper, P. (1998): The relevance of photomutagenicity testing as a predictor of photocarcinogenicity. *Int. J. Toxicol.*, **17**, 551-558.
- Murli, H., Aardema, M., Lwalor, T. and Spicer, C. (2002): Photoclastogenicity-an improved protocol, its validation, and investigation of the photogenotoxicity of DMBA. *Environ. Mol. Mutagen.*, **40**, 41-49.
- Nagayo, K., Way, B.H., Tran, R.M. and Song, P.S. (1983): Photocarcinogenicity of 8-methoxypsoralen and aflatoxin B1 with longwave ultraviolet light. *Cancer Lett.*, **18**, 191-198.
- Preston, R.J., Dean, B.J., Galloway, S., Holden, H., McFee, A.F. and Shelby, M. (1987): Mammalian in vivo cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *Mutat. Res.*, **189**, 157-165.
- Stern, R.S., Thibodeau, L.A., Kleinerman, R.A., Parrish, J.A. and Fitzpatrick, T.B. (1979): Risk of cutaneous carcinoma in patients treated with oral methoxsalen photochemotherapy for psoriasis. *N. Eng. J. Med.*, **300**, 809-813.