

HPLC와 중수소 충돌기체 ICP/MS를 이용하여 분석한 셀레노단백질과 한국인 직장암과의 상관관계 연구

이서영 · 박용남*

한국교원대학교 화학교육과
(접수 2019. 8. 29; 게재확정 2019. 10. 30)

A Study for the Relation Between Selenoproteins and Korean Rectal Cancer Using Deuterium Collision Gas HPLC-ICP/MS

Seo Young Lee and Yong-Nam Pak*

Department of Chemistry Education, Korea National University of Education, Cheongju 28173, Korea.

*E-mail: pakyn@knue.ac.kr

(Received August 29, 2019; Accepted October 30, 2019)

요 약. 본 연구에서는 중수소를 충돌기체로 사용한 ICP-MS와 ammonium formate를 용리액으로 사용한 친화 크로마토그래피를 이용하여 한국인의 혈청에서의 셀레노단백질 GPx, SelP 및 SeAlb을 분리하고 후 칼럼 동위원소 희석법으로 정확히 정량하였다. 인 증기준물질인 BCR 639 ($133 \pm 12 \text{ ng g}^{-1}$)에 대하여 측정된 셀레늄 총량값은 $130 \pm 6 \text{ ng g}^{-1}$ 으로 정확한 결과를 보여주었다. 이 방법을 적용하여 한국인의 직장암 그룹 25명과 통제군 30명의 혈청 속 셀레노단백질을 분석한 결과 셀레늄 총량에 대하여 직장암 그룹이 $84 \pm 27 \text{ ng g}^{-1}$, 통제군이 $119 \pm 28 \text{ ng g}^{-1}$ 으로 직장암 그룹이 통제군 보다 95% 신뢰수준에서 통계적으로 더 작은 결과를 보여 주었다. 즉 t 계산값은 4.93으로 95% 신뢰수준의 2.04보다 높았다. 이러한 경향은 남성보다 여성에서, 60대 이상의 고 연령층 일 수록 더욱 뚜렷하였다. 각 셀레노단백질의 분포를 조사한 결과, 두 그룹은 서로 비슷하였고 각 셀레노단백질과 직장암에 따른 특별한 경향성은 보이지 않았다. 또한 직장암 병기가 진행됨에 따라 셀레노단백질 중 GPx의 농도가 약간 감소하는 경향이 있었고, 셀레늄 총량의 경우 2기에서 약간 증가하는 특징을 보였다.

주제어: 셀레늄, 셀레노단백질, 직장암, 혈청, HPLC-ICP/MS

ABSTRACT. Selenoproteins, in Korean blood serum, GPx, SelP, and SeAlb were separated and determined with the use of HPLC-ICP/MS. Deuterium was used as a collision gas and affinity column with ammonium formate was used as an eluting solvent for the accurate quantitation of selenoproteins in human blood serum. Certified reference material BCR 639 ($133 \pm 12 \text{ ng g}^{-1}$) was tested for the accuracy and the result was satisfactory $130 \pm 6 \text{ ng g}^{-1}$. Blood serum for the rectal cancer and controlled groups were collected and analyzed to give $84 \pm 27 \text{ ng g}^{-1}$, and $119 \pm 28 \text{ ng g}^{-1}$, respectively. The difference was statistically obvious when t-test was performed ($t_{\text{cal}} 4.93 > t_{95\%} 2.04$). The decrease for cancer group was more obvious for female and aged group. The distributions of three selenoproteins were similar with each other, which means rectal cancer group did not show any specificity for any selenoproteins. As cancer developed, GPx showed a slight decrease but not obvious while the total concentration was increasing particularly at the second stage of cancer.

Key words: Selenium, Selenoprotein, Rectal cancer, Blood serum, HPLC-ICP/MS

서 론

셀레늄은 21세기 비타민으로 주목 받고 있으며 또한 암의 발병과 예방에도 관여하는 것으로 알려져 있다.¹ 1969년 Shamberger²가 셀레늄의 항암효과를 처음 제시한 이후 현재까지 셀레늄과 암의 상관관계에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다.³⁻⁵ 한편 한국인의 대장암은 지난 20년간 2배 이상 급속도로 증가하여 10만명당 45명으로 전 세계

184개국 중 발병률 1위를 기록한 암이며 따라서 대장암의 일종인 직장암 역시 관심을 두고 연구되어야 할 분야이다. 하지만 한국인 직장암과 셀레늄의 상관관계 및 직장암 단계에 따른 혈청 속 셀레노단백질과의 관계에 대한 연구는 아직까지 많이 보고되고 있지 않다.

암과 셀레늄의 상관관계 연구를 위한 혈청 속 셀레늄 분석에는 무엇보다 극미량 수준에서 정확한 분석이 요구된다. 이는 셀레늄이 인체에서 필수 미량원소로서 약 100

$\mu\text{g kg}^{-1}$ 의 좁은 농도범위를 갖기 때문이다.⁶ 유도결합 플라즈마 질량분석기(Inductive Coupled Plasma-Mass Spectrometry, ICP-MS)를 이용한 동위원소 측정은 약 0.1~0.5%의 상대 오차를 가지며 우수한 정밀도와 함께 높은 감도를 보이고 분석속도가 빠르다는 장점이 있다. 따라서 이를 이용한 동위원소 희석법(Isotope Dilution Analysis, IDA)은 셀레늄과 같은 극미량 원소분석에 적합한 방법이라 할 수 있다.^{7,8} 또한, 여러 화학종들을 분리하고 분석하기 위하여서는 크로마토그래피를 적용하여야 하고 정확한 정량을 위하여서는 후 칼럼 동위원소 희석법(Post Column Isotope Dilution, PCID)이 필요하다. 이 분석 방법은 혈청 내 셀레노단백질의 각 화학종들에 대한 정확한 결과를 제공할 수 있을 것이다.

셀레늄과 암과의 상관관계를 좀 더 엄밀하게 연구하기 위하여서는 총량보다는 각 셀레노단백질에 따른 상관관계를 살펴보는 것이 매우 중요하다. 혈청 속 셀레노단백질은 친화 크로마토그래피를 이용해 글루타티온 과산화효소 (Glutathione Peroxides, GPx), 셀레노프로테인 P(selenoprotein P, SelP)과 셀레노알부민(selenoalbumin, SeAlb)으로 분리할 수 있으며 이들의 각 농도를 정확히 정량분석하는 것이 의미가 있을 것이다. 각 단백질은 항암작용에서 기전이 서로 다를 수 있는데 Schrauzer⁹는 셀레노단백질 중 GPx가 우선적으로 DNA와 세포구성물을 산소 래디칼로부터 손상되지 않도록 하는 역할을 한다고 보고하였다. 또한, Jitaru¹⁰는 셀레늄의 농도감소시에 SeAlb이 가장 우선적으로 고갈되므로 생체지표로서의 역할에 적합함을 시사한 바 있다.

이 때 혈청 속 셀레노단백질의 정확한 분석을 방해하는 몇 요인 중 가장 큰 것은 혈청 내 Br⁻에 의한 동중간섭이다. 셀레늄분석에는 $^{80}[\text{Ar}_2^+]$ 에 의한 동중간섭이 매우 크므로 반드시 제거되어야 하고 이러한 목적으로 충돌셀이 장착된 ICP/MS를 이용하게 된다. 그러나 충돌기체로 사용하는 수소는 충돌셀 내에서 시료의 매트릭스에 존재하는 브롬 이온과 반응하여 $^{80}[\text{Br}^+\text{H}^+]$ 를 형성하고 이는 ^{80}Se 신호에 직접적인 분광학적 간섭을 주게 된다.¹¹

혈청과 혈장에는 약 $3.5 \text{ mg L}^{-1} \sim 3.5 \text{ g L}^{-1}$ 의 Br⁻, Cl⁻이 존재한다.¹² 이렇게 다량 존재하는 Br⁻는 친화 크로마토그래피를 이용한 혈청의 셀레늄 분석에서 칼럼에 결합하지 않는 셀레노단백질인 GPx와 함께 검출된다. 따라서 동위원소 희석법에서 $^{78}\text{Se}/^{80}\text{Se}$ 비를 사용한다면 비록 BrH⁺ 간섭을 수학적으로 보정하여도 GPx를 정확히 정량하기 어렵다. 이러한 이유로 혈청의 분석에는 자연 존재비가 낮은 셀레늄 동위원소들의 비를 이용하였는데 즉, 스파이크 동위원소로 ^{78}Se 를 사용하고 대응피크로 m/z 78을 측정하면 m/z 80에 대한 동중간섭의 문제를 피할 수 있었다.^{13,14} 하지만 이 경우에 신호의 세기가 약 1/3로 감소하며 이는 정밀도의 감소로 이어지므로 m/z 80을 측정하는 것이 더 유리하다. 따라

서 본 연구에서는 수소 대신 중수소를 충돌셀의 기체로 사용하여 m/z 80에서의 동중간섭을 제거한 ^{80}Se 신호의 측정을 가능하게 하였다.¹⁵

또 다른 문제는 PCID를 적용할 때에 이동상의 농도의 변화에 따라 ICP/MS에서의 셀레늄의 감도가 변하게 되는 경우이다. 셀레노단백질 분리를 위한 이동상으로는 주로 ammonium acetate가 이용되어 왔으며 기율기 용리법을 사용한다. 농도가 변하면 플라즈마에 유입되는 탄소의 양이 달라지게 되어 탄소양이온에 의한 셀레늄의 이온화 효율이 변하게 된다.^{16,17}

따라서 기존의 연구¹⁸에서는 탄소를 배제한 ammonium nitrate를 용리액으로 사용하여 좋은 결과를 얻을 수 있었으나 토오치 끝부분이나 분무기 끝에서 생기는 염의 결정으로 말미암아 정밀도가 나빠지는 단점이 생겼다. 결국, 본 연구에서는 ammonium formate를 이동상으로 사용하여 분무기의 흐름변화를 없애고 탄소원에 의한 셀레늄의 감도변화를 최소화시켜 분석의 정확도와 정밀도를 높였다.

본 연구에서는 이러한 동중간섭의 배제와 용리액에 의한 신호의 변화를 최소화시켜 정확한 분석법을 고안하고 혈청내의 셀레노단백질을 분석하여 한국인의 직장암과의 상관관계를 연구하였다.

실 험

ICP-MS는 Agilent Technology회사의 팔중극자 충돌셀이 장착된 모델 7500ce (Agilent, Japan)를 사용하였다. 이때 충돌/반응 기체로 중수소(D₂, 99.8 atom %)를 사용하였다. HPLC는 Hitachi의 L-6200A (Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 시료 주입에 사용한 밸브는 Rheodyne Model 7125 (Cotati, CA, USA)이고, 주입량은 100 μL 로 일정량을 유지하였다. 혈청 속 셀레노단백질 분리를 위한 친화컬럼은 Heparin Sepharose (HEP, 7 mm \times 25 mm, 1 ml, GE Healthcare Life Science, Sweden)와 BLUE Sepharose (Blue, 7 mm \times 25 mm, 1 ml, GE Healthcare Life Science, Sweden)를 사용하였다.

이동상으로 ammonium formate ($\geq 99.995\%$, trace metals basis, Sigma-Aldrich, Yongin, South Korea)를 사용하였다. 비교를 위해 선행연구¹⁹에서 사용된 이동상인 ammonium acetate ($\geq 99.99\%$, trace metals basis, Sigma-Aldrich, Yongin-si, South Korea)와 ammonium nitrate (98%, Sigma-Aldrich, Yongin, South Korea)를 사용하였다. 연동 펌프를 통해 실시간으로 주입되는 셀레늄 농축 동위원소 표준용액은 ^{78}Se 존재비가 97.99%인 ^{78}Se 동위원소 용액(Trace Sciences International Corp., DE, USA)을 사용하였다. 실험조건을 Table 1에 나타내었다.

중수소를 충돌기체로 사용하고 셀레노단백질들을 분리

Table 1. Experimental conditions for HPLC ICP/MS

ICP/MS condition	
Integration time (per point)	0.1 s
Acquisition mode	Time resolved analysis
Monitored isotopes	76, 78, 80
Repetition	1
HPLC condition	
Column	HEP (7 mm*25 mm, 1 mL), BLUE (7 mm*25 mm, 1 mL)
Injection volume	100 μ L
Flow rate	0.9 mL min ⁻¹
Mobile phase A (equilibrium buffer)	0.05 M Ammonium Formate
Mobile phase B (elution buffer)	1.5 M Ammonium Formate

Table 2. Distribution of age for rectal cancer group & control group

Age Group, (years)	Rectal cancer group, (No.)	Control group, (No.)
41~50	2	4
51~60	5	7
61~70	7	6
71~80	13	4
81~90	3	4
Total	30	25

및 검출한 연구는 선행연구¹⁹에서 발표한 바 있다. 연구에서는 용리액의 변화와 실제 암환자에 대한 적용연구이다.

직장암 환자 혈액은 전남대학교 화순병원 인체자원단 위은행에서 제공받은 혈청을 사용하였다. 통제군 혈액은 대한적십자사 충청북도 혈액원에서 제공받은 신선동결 혈장(Fresh Frozen Plasma, FFP)과 충북대학교 인체자원단 위은행에서 제공받은 흉통으로 병원을 내원한 환자의 혈청을 사용하였다. 이에 대한 정보는 Table 2에 나타내었다.

Safe-lock tube에 담긴 혈청은 -70 °C에서, 혈액 팩에 담긴 FFP는 -20 °C에서 보관하였다. 혈액 시료는 실험 전 녹이고 0.45 μ m filter로 거른 후 사용하였다.

결과 및 고찰

혈청 시료 속 셀레노단백질 분석의 정확도 개선

Fig. 1(A)에서 보여준 것처럼 ammonium acetate (AA) 이동상의 농도변화(0.05 M에서 1.5 M)에 따라 셀레늄의 이온화 효율 즉, 감도가 변화하여 신호값이 변하게 된다. 이 연구에 적용한 후 칼럼 동위원소법에서는 스파이크 동위원소를 지속적으로 넣어주므로 그림에서는 바탕값이 변화하는 것으로 보이지만 실제로는 셀레늄의 신호가 변하는 것이다. 이 변화는 정량의 정확도를 낮추는 원인이 된다. 하지만 용리액의 탄소수가 적은 ammonium formate (Fig.

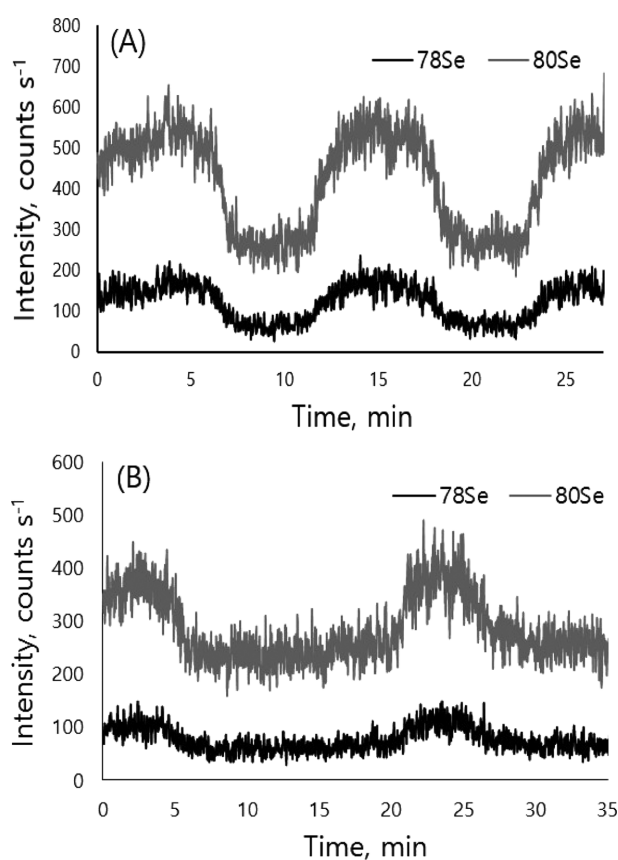


Figure 1. Change of sensitivity due to concentration change of mobile phase for (A) Ammonium acetate and (B) ammonium formate. (A); 0.05 M mobile phase used for 0~6 min and 12~18 min while 1.5 M was used for 6~12 min and 18~23 min. (B); 0.05 M mobile phase used for 0~5 min and 21~27 min while 1.5 M used for 5~21 min and 27~35 min.

1-B)를 사용하면 이러한 감도의 변화는 감소하여 정확한 정량이 가능하게 된다. 물론 탄소가 없는 ammonium nitrate가 더 유리하지만 전술한 물리적인 요인으로 정밀도가 나빠 더 이상 사용하지 않았다.

인증표준물질 BCR-639 (certified Se level 133 ± 12 ng g⁻¹)을

사용하여 정확도를 검증한 결과, 셀레늄 총량은 $130 \pm 6 \text{ ng g}^{-1}$ (95% 신뢰구간)으로서 이 방법은 좋은 정확도와 정밀도를 보여주었다.

직장암과 셀레늄의 상관관계

직장암 그룹과 통제군의 혈청 속 셀레노단백질 농도를 조사하고 총농도와 각 셀레노단백질의 농도를 Table 3과 Fig. 2에 나타내었다.

대조군의 셀레늄의 총량을 조사한 결과 $119 \pm 28 \text{ ng g}^{-1}$ 이었다. 이 값은 Ko²⁰가 2000년 서울주민을 대상으로 하여 혈장 셀레늄을 조사한 값(남성 129 ng g^{-1} 과 여성 108 ng g^{-1}), Song²¹이 2006년 비뇨기과 외래에 전립선비대증과 배뇨 장애 등의 양성질환으로 내원한 집단의 혈청 셀레늄 농도인 117 ng g^{-1} , 및 Kim²²이 2009년 건강한 한국인 혈장 셀레늄 농도를 112 ng g^{-1} 로 보고한 것과 일치한다.

또한, Park²³은 위암의 대조군으로 사용한 순환기질환 집단의 혈청 속 셀레늄 농도를 106 ng g^{-1} 으로 보고하였다. 하지만 Park²³의 연구에서는 동위원소 희석법이 아닌 검정곡선법을 적용하였고, 용리액도 AA를 사용하였으므로,

Table 3. Comparison of Selenoprotein concentrations in Korean blood serum for rectal cancer & control groups

	Se, ng g ⁻¹	
	Control group (n=25)	Rectal cancer group (n=30)
GPx	26 ± 7	18 ± 5
SelP	78 ± 21	56 ± 21
SeAlb	15 ± 5	10 ± 3
Total Se	119 ± 28	84 ± 27
Average age, years	63 ± 13	68 ± 11
% of male	48	70

Average ± SD.

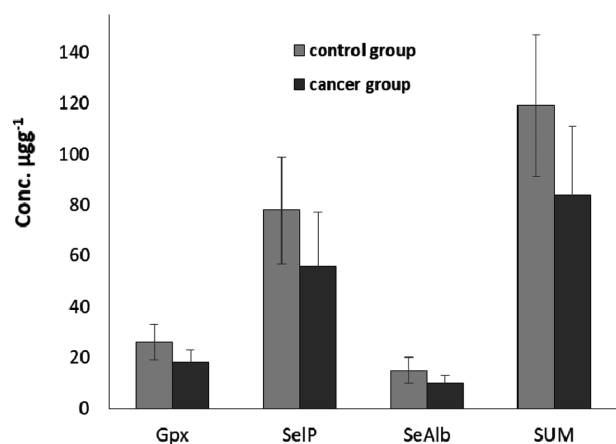


Figure 2. Comparison of Selenoproteins for rectal cancer and control groups.

본 연구에서의 결과가 더 높은 정확도를 가지는 것으로 생각된다.

셀레노단백질 3종의 분포비율은 GPx, SelP, SeAlb가 통제군에서 21%, 66%, 13%이고 직장암 그룹에서는 21%, 67%, 12%로 서로 일치하였고, 두 집단 간 평균연령도 차이가 없다. 하지만 셀레노단백질의 농도는 큰 차이를 보이는데, 직장암 그룹은 통제군보다 셀레늄 총량이 29% 낮았고, 종별로는 GPx, SelP, 및 SeAlb가 각각 31%, 28%, 32% 낮았다. 이것은 Hughes²⁴가 유럽인을 대상으로 연구에서 낮은 혈장 셀레늄 농도는 직장암 위험과 관련이 있음을 보고한 것이나 대장암 환자의 혈장 셀레늄 농도는 대조군보다 낮으며 또한 농도가 낮은 집단일수록 대장 샘종에 대한 위험도가 더 증가함을 보고한 Russo²⁵의 연구와 일치하는 결과이다. 각 셀레노단백질과 암과의 연관에서 Hughes²⁴는 SelP의 높은 농도가 직장암의 낮은 위험도와 유의미한 결과가 있다고 보고한 반면에 본 연구에서는 세 단백질 모두 연관성이 높은 것으로 보인다. 그 다음 셀레늄 농도를 성별과 연령에 따라 비교하였는데 먼저 성별에 따른 혈청 속 셀레노단백질 농도를 Table 4에 나타내었다.

두 집단 모두에서 남성이 여성보다 셀레노단백질 농도가 높았다. 성별에 따른 셀레늄 총량의 차이는 통제군의 경우 10 ng g^{-1} , 직장암 그룹은 19 ng g^{-1} 이었고, SelP에서 그 차이가 가장 컸다. 이것은 한국인을 대상으로 한 Ko의 연구,²⁰ 스위스인을 대상으로 한 Burri,²⁶ 미국인을 대상으로 한 Kafai²⁷의 연구결과에서 남성이 여성보다 셀레늄 농도가 높았던 것과 모두 일치한다. 이렇게 한국인 남성이 여성보다 혈청 내 셀레늄 농도가 높은 이유는 한국인의 셀레늄 섭취가 주로 육류와 어패류에서 이루어지고, 남성이 여성보다 육류와 어패류를 더 많이 섭취하기 때문으로 생각된다.

직장암의 경우, 남성과 여성 모두에서 셀레노단백질의 농도 감소가 있지만 그 감소폭은 여성이 남성보다 조금 더 컸다. 이것은 Hughes²⁴가 여성에서 셀레늄 농도와 직장암 위험의 상관관계가 더 뚜렷하다고 보고한 것과 유사하다. 결국, 남녀에 따른 차이는 조금 있지만 두 그룹 모두

Table 4. Comparison of Selenoprotein concentrations in Korean blood serum for rectal cancer & control groups by gender

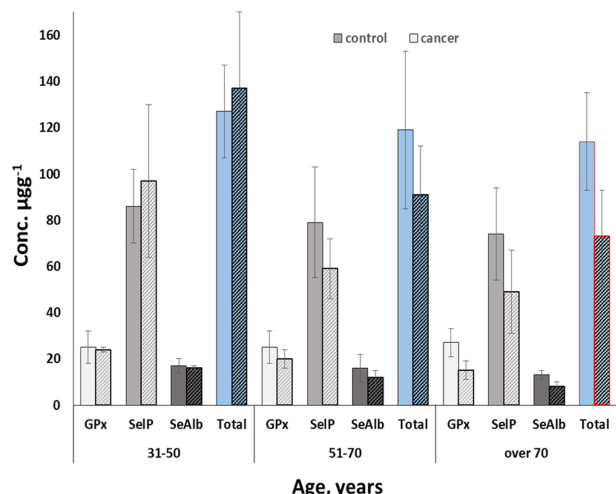
	Se, ng g ⁻¹			
	Control group		Rectal cancer group	
	Male (n=12)	Female (n=13)	Male (n=21)	Female (n=9)
GPx	26 ± 7	26 ± 6	18 ± 4	16 ± 5
SelP	83 ± 24	74 ± 16	61 ± 22	46 ± 16
SeAlb	15 ± 6	15 ± 4	11 ± 3	9 ± 3
Total Se	124 ± 33	114 ± 22	90 ± 26	71 ± 23

Average ± SD.

Table 5. Comparison of Selenoprotein concentrations in Korean blood serum for rectal cancer & control groups with ages

Age group, years	Se, ng g ⁻¹					
	Control group			Rectal cancer group		
	31~50 (n=4)	51~70 (n=13)	Over 71 (n=8)	31~50 (n=2)	51~70 (n=12)	Over 71 (n=26)
GPx	25 ± 7	25 ± 7	27 ± 6	24 ± 1	20 ± 4	15 ± 4
SelP	86 ± 16	79 ± 24	74 ± 20	97 ± 33	59 ± 13	49 ± 18
SeAlb	17 ± 3	16 ± 6	13 ± 2	16 ± 1	12 ± 3	8 ± 2
Total Se	127 ± 20	119 ± 34	114 ± 21	137 ± 33	91 ± 21	73 ± 20

Average ± SD.

**Figure 3.** Comparison of selenoprotein concentrations for age ranges.

직장암 그룹에서 더 낮은 셀레늄 단백질의 농도를 보여주고 있다.

직장암과 통제군 두 그룹을 좀 더 자세히 비교하기 위하여 연령에 따른 혈청 속 셀레노단백질 농도를 각각 Table 5에 나타내었다. Fig. 3에서는 연령별 셀레노단백질 농도를 그림으로 나타내었다.

먼저 단순히 나이에 따른 셀레늄의 농도를 살펴보면, 두 집단 모두 나이에 따라 셀레늄 단백질의 농도가 감소하는 경향을 보여주며 이것은 타 연구에서도 보고되고 있다. Savarino²⁸는 91~110세 집단이 60~90세 집단보다 혈청 속 셀레늄 농도가 더 낮음을 보여 주었고 Kafai²⁷와 Fernandez-Banares²⁹는 연령 범위를 31~50세, 51~70세, 71세 이상인 세 집단으로 나누었을 때에 역시 연령이 증가함에 따라 셀레늄 총량은 감소하는 경향을 보고하였다. 하지만 나이와 셀레늄 농도와의 관계는 서로 무관하다는 Swanson³⁰과 다른 여러 과학자의 연구들^{21,23,26}도 보고되고 있다.

본 연구에서는 결과를 잘 살펴보면 통제군의 경우에는 연령과 혈청 속 셀레노단백질 농도의 상관관계가 크지 않았지만 암환자 군에서는 감소경향이 매우 뚜렷하게 나타나고 있는 특징을 보여준다. 즉, 통제군에서는 연령이 높

아짐에 따라 셀레노단백질의 농도는 조금 감소(127 ng g⁻¹에서 114 ng g⁻¹) 하였지만, 직장암군에서는 현저하게 (137 ng g⁻¹에서 73 ng g⁻¹까지) 감소한다.

같은 연령대에서 통제군과 직장암 두 그룹을 비교하면 직장암 그룹이 통제군보다 셀레늄의 농도가 훨씬 더 급속하게 감소한다. 즉, 51-70세 연령대에서는 암환자군에서 23.5% 감소하고 71세 이상에서는 36.3% 감소하여 직장암 환자군은 높은 연령대에서 더욱 큰 감소를 보여준다. 본 연구에서는 50세 이하의 표본숫자는 많지 않아서 비교가 적당하지 않았다. 따라서 일반적으로 나이에 따라 셀레늄의 농도가 약간씩 감소할 수도 있지만 특별한 질병 즉, 직장암과 같은 경우에는 확실한 경향성을 보인다고 할 수 있다. 즉, 나이가 적은 경우에는 셀레늄과 직장암의 상관관계가 적은 반면 나이가 들수록 그 상관관계는 증가한다고 볼 수 있다.

두 집단의 비교에서 어떤 셀레노단백질이 가장 많이 감소하는지를 비교해보면 SelP에서 가장 뚜렷하게 나타나 보이지만 이는 SelP가 셀레노단백질중 가장 큰 부분을 차지하기 때문이며 %별로 계산해보면 GPx도 마찬가지로 비슷한 차이를 보여준다. 하지만 이 결과는 표본의 수가 충분하지 못하여 나타난 것인지 아니면 암환자의 신진대사와 특정 셀레노단백질과 무관한 것인지는 결론을 내리지 못하였다.

직장암 병기 별 혈청 속 셀레노단백질 농도 비교

병기에 따른 혈청 속 셀레노단백질 농도를 Table 6과 Fig. 4에 나타내었다.

Table 6. Concentration of selenoproteins for rectal cancer group with cancer development stage

	Se, ng g ⁻¹		
	stage1 (n=10)	stage 2 (n=10)	stage 3(n=10)
GPx	20 ± 4	17 ± 5	16 ± 5
SelP	51 ± 13	60 ± 21	51 ± 18
SeAlb	10 ± 2	11 ± 4	10 ± 4
Total Se	80 ± 17	88 ± 27	78 ± 25

Average ± SD.

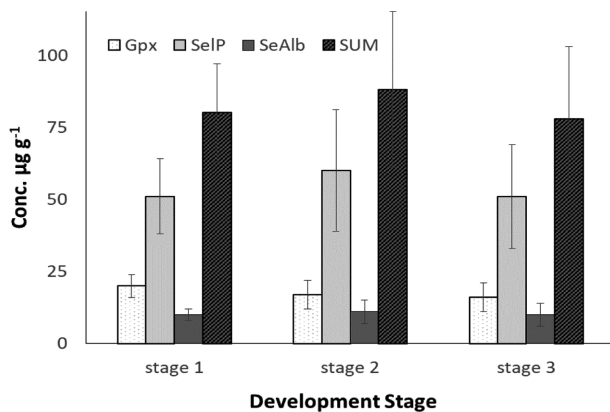


Figure 4. Comparison of selenoprotein concentration by rectal cancer stage.

직장암의 진행에 따른 농도의 경향성은 우선 GPx가 아주 조금 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 이와 관련하여 Schrauzer⁹는 셀레늄의 항암작용이 GPx와 우선적으로 관련되어 있음을 밝힌바 있었다. 하지만 셀레늄의 항암효과는 특정 조직이 아닌 생리적인 역할을 통해 이루어지는 것으로, 셀레노단백질에 의한 항산화, 발암물질의 무독화 및 면역시스템 활성화와 셀레늄 대사물질에 의한 항 종양 효과 등의 다양한 기전이 작용한다는 연구보고가 있었다.^{1,31} 이러한 발생기전의 다양성은 어느 한 단백질보다 셀레늄 총 농도의 분석도 중요함을 의미한다. 직장암 환자의 경우 2기에서 1기보다 셀레늄 총 농도가 증가하는 경향을 보였는데, Song²¹의 한국인 전립선암 환자의 병기에 따른 비교에서 국소전행암의 경우 국소암보다 셀레늄 총량이 높은 것과 유사하였다. 또한, 방광암의 경우에서, 종양발생 초기단계보다 중기로 진행할 때에 셀레늄의 농도가 오히려 증가한다는 Reszka³²의 연구와 비슷하여 흥미롭다.

결론

건강한 인간 혈장의 분석 결과 충돌/반응기체로 D₂를 사용하면 혈청 속 Br⁻에 의한 간섭을 효과적으로 배제할 수 있었고, 자연 존재비가 가장 높은 ⁸⁰Se를 PCID를 이용하는 것이 가능하였다. 또한 이동상으로 ammonium formate를 사용하면 이동상의 농도변화에 따른 셀레늄의 감도변화가 작았고, 정밀한 실험결과를 보여주었다.

직장암 그룹과 통제군의 혈청 속 셀레노단백질 분석 결과, 두 그룹은 서로 비슷한 분포를 보였으나, 남성이 여성보다 셀레노단백질의 농도가 높았으며, 연령이 증가할수록 셀레늄 총량은 감소하는 경향을 보였다.

암환자군과 통제군의 비교에서 총 셀레늄은 직장암 그룹이 통제군보다 현저히 낮았고(29%), 각 종별로는 어떤

특징을 보여주지 않았다. 이러한 감소경향은 남성보다 여성의 경우에, 그리고 무엇보다 60대 이상의 고연령대에서 매우 뚜렷하였다. 직장암 병기에 따라서는 어떤 특별한 상관관계를 보여주지 않았다. 본 연구를 통해 혈청 속 셀레노단백질의 농도가 직장암 진단의 보조적인 지표로 활용될 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.

본 연구에서는 HEP, BLUE 칼럼으로는 분리된 3가지 peak중, 처음의GPx 피크에는 GPx를 포함하여 칼럼에 결합하지 않는 모든 셀레늄 화학종(selenate, selenite 등)이 있으므로 경우에 따라 샘플을 정제하여야 할 것이다. 또한 좀 더 확실한 결론을 위하여서는 더 많은 수의 표본으로 체내 셀레늄 상태에 영향을 주는 인자들을 통제된 조건에서 추가 연구가 진행되어야 할 것으로 보인다.

Acknowledgments. 본 연구에 사용된 직장암 환자의 혈청은 전남대학교 화순병원 인체자원단위은행에서 제공 받았고 통제군 혈액은 대한적십자사 충청북도 혈액원에서 제공받은 신선동결혈장(Fresh Frozen Plasma, FFP)과 충북대학교 인체자원단위은행에서 제공받은 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Chung, A. S.; Park, J. M.; Kim, A. *Journal of Korean Association* **2004**, 9, 8.
2. Shamberber, R. J.; Frost, D. V. *Canadian Medical Association Journal* **1969**, 100, 682.
3. Rayman, M. P. *Proceedings of the Nutrition Society* **2005**, 64, 527.
4. Clark, L. C.; Combs, G. F.; Turnbull, B. W.; Slate, E. H.; Chalker, D. K.; Chow, J.; Krongrad, A. *JAMA* **1996**, 276, 1957.
5. Blot, W. J.; Li, J. Y.; Taylor, P. R.; Guo, W.; Dawsey, S.; Wang, G. Q.; Yang, C. S.; Zheng, S. F.; Gail, M.; Li, G. Y.; Yu, Y.; Liu, B. Q.; Tangrea, J.; Sun, Y. H.; Liu, F.; Fraumeni, J. F.; Zang, Y. H.; Li, B. *Journal of the National Cancer Institute* **1993**, 85, 1483.
6. Woo, J. H.; Lim, W. S. *Ewha Med. J.* **2017**, 40, 17.
7. Niedzielski, P.; Siepak, M. *Polish Journal of Environmental Studies* **2003**, 12, 653.
8. Jenner, F. E.; Holden, P.; Mavrogenes, J. A.; O'Neill, H. S.; Allen, C. *Geostandards and Geoanalytical Research* **2009**, 33, 309.
9. Schrauzer, G. N. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2000**, 57, 1864.
10. Jitaru, P.; Cozzi, G.; Seraglia, R.; Traldi, P.; Cescon, P.; Barbante, C. *Analytical Methods* **2010**, 2, 1382.
11. Cho, H. H.; Pak, Y. N. *Journal of the Korean Chemical Society* **2011**, 55, 472.
12. García-Sevillano, M. A.; García-Barrera, T.; Gómez-Ariza,

- J. L. *Journal of Chromatography A* **2013**, 1318, 171.
13. Kim, S. J. Masters Thesis, Korea National University of Education, 2016.
14. Jitaru, P.; Roman, M.; Cozzi, G.; Fiscaro, P.; Cescon, P.; Barbante, C. *Microchimica Acta* **2009**, 166, 319.
15. Kim, L. W.; Pak, Y. N. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2017**, 38, 1405.
16. Kralj, P.; Veber, M. *Acta Chimica Slovenica* **2003**, 50, 633.
17. Warburton, E.; Goenaga-Infante, H. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **2007**, 22, 370.
18. Kim, S. J.; Pak, Y. N. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2016**, 37, 1886.
19. Lee, S. Y.; Pak, Y. N. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2018**, 39, 941.
20. Ko, Y. S.; Park, J. W.; Lee, S. H.; Lee, Y. C.; Hong, Y. J. *Journal of the Korean Ophthalmological Society* **2003**, 44, 2358.
21. Song, S. H.; Song, K. H.; Lee, S. B.; Kim, C. S. *Investigative and Clinical Urology* **2006**, 47, 150.
22. Kim, Y. J.; Galindez, O.; Sei, J. H.; Bae, S. M.; Im, H.; Wen, L.; Ahn, W. S. *Biological Trace Element Research* **2009**, 131, 103.
23. Park, M. S.; Pak, Y. N. *Analytical Science & Technology* **2015**, 28, 417.
24. Hughes, D. J.; Fedirko, V.; Jenab, M.; Schomburg, L.; Méplan, C.; Freisling, H.; Bueno-de-Mesquita, H. B.; Hybsier, S.; Becker, N.; Czuban, M.; Tjønneland, A.; Outzen, M.; Boutron-Ruault, M.; Racine, A.; Bastide, N.; Kühn, T.; Kaaks, R.; Trichopoulos, D.; Trichopoulou, A.; Lagiou, R.; Panico, S.; Peeters, P. H.; Weiderpass, E.; Skeie, G.; Dagrun, E.; Chirilaque, M. D.; Sánchez, M. J.; Ardanaz, E.; Ljuslinder, I.; Wennberg, M.; Bradbury, K. E.; Vineis, P.; Naccarati, A.; Palli, D.; Boeing, H.; Overvad, K.; Dorronsoro, M.; Jakszyn, P.; Cross, A. J.; Quirós, J. R.; Stepien, M.; Kong, S. Y.; Duarte-Salles, T.; Riboli, E.; Hesketh, J. E.; Tjønneland, A. *International Journal of Cancer* **2015**, 136, 1149.
25. Russo, M. W.; Murray, S. C.; Wurzelmann, J. I.; Woosley, J. T.; Sandier, R. S. *Nutrition and Cancer* **1997**, 28, 125.
26. Burri, J.; Haldimann, M.; Dudler, V. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **2008**, 22, 112.
27. Kafai, M. R.; Ganji, V. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **2003**, 17, 13.
28. Savarino, L.; Granchi, D.; Ciapetti, G.; Cenni, E.; Ravaglia, G.; Forti, P.; Maioli, F.; Mattioli, R. *Experimental Gerontology* **2001**, 36, 327.
29. Fernandez-Banares, F.; Dolz, C.; Mingorance, M. D.; Cabré, E.; Lachica, M.; Abad-Lacruz, A.; Gil, A.; Esteve, M.; Giné, J. J.; Gassull, M. A. *European Journal of Clinical Nutrition* **1990**, 44, 225.
30. Swanson, C. A.; Longnecker, M. P.; Veillon, C.; Howe, M.; Levander, O. A.; Taylor, P. R.; McAdam, P. A.; Brown, C. C.; Stampfer, M. J.; Willett, W. C. *The American Journal of Clinical Nutrition* **1990**, 52, 858.
31. Kim, J. H.; Hue, J. J.; Kang, B. S.; Park, H.; Nam, S. Y.; Yun, Y. W.; Kim, J. S.; Jeong, J. H.; Lee, B. J. *Laboratory Animal Research* **2010**, 26, 293.
32. Reszka, E. *Clinica Chimica Acta* **2012**, 413, 847.