

펄스자기장이 백혈구 암세포주에 미치는 영향

신성철*, 조규일¹, 장태순¹, 방주희, 최상대², 박영석², 정의룡, 이상석¹, 황도근¹

상지대학교 동물생명자원학부, ¹상지대학교 한방의료공학과,

²(주)누가의료기 누가한방연구소

1. 서론

본 연구는 펄스자기장(pulsed electromagnetic fields)이 백혈구 암세포주에 미치는 영향을 분석하기 위하여 쥐 호염기성 백혈구 암세포주인 RBL-2H3 (rat bosophilic leukemia cell)를 대상으로 1Tesla의 순간 펄스자기장을 6~48시간 동안 인가한 후, 자기장 인가 유·무 따른 각 시간대별 세포의 형태학적 변화 모습과 세포수의 변화량을 관찰하고, 각 시간대별 실험대상 세포주의 cytokine 계통 유전자(TNF- α 및 IL-4)들의 mRNA 발현량과 DNA 염기서열 구조를 비교 분석하였다.

2. 재료 및 방법

가. 공시재료 및 펄스자기장 인가 조건

- 1) 대상 세포주 : RBL-2H3 (rat bosophilic leukemia cell 쥐 호염기성 백혈구 암 세포주)
- 2) 펄스자기장 인가 조건 : 케패시터를 이용하여 충전하고 SCR(Silicon Control Rectifier)을 이용하여 전류를 제어하여 330ms의 주기를 가진 1Tesla의 자기장을 1초에 1번 펄스 형태로 인가

나. 실험 방법

- 1) 펄스자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별(6, 12, 24 및 48시간 후) 실험대상 세포의 형태학적 변화 양상 관찰 및 세포수 측정/비교를 통한 세포분열 및 세포괴사 현상 관찰
- 2) 자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별 실험대상 세포주의 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-4 (Interleukin-4) 유전자들에 대한 mRNA 발현량 비교 분석
 - 각 실험대상 세포주로부터 total RNA extraction and purification
 - RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction)을 통한 각 실험대상 세포주의 cDNA synthesis
 - PCR (polymerase chain reaction)을 통한 각 실험대상 세포주 유래 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-4 (Interleukin-4) 유전자들의 mRNA 발현량 비교 분석
- 3) 자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별 실험대상 세포주의 특정 유전자에 대한 DNA 염기서열 비교 분석을 통한 DNA 구조 변화 여부 관찰
 - 각 실험대상 세포주로부터 genomic DNA extraction and purification
 - PCR (polymerase chain reaction)기술을 이용한 특정유전자 증폭
 - Direct-sequencing기법을 이용한 각 실험 단계별 DNA의 염기서열 구조 분석

3. 실험결과 및 고찰

가. 펄스자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별(6, 12, 24 및 48시간 후) 실험대상 세포의 형태학적 변화 양상 관찰 및 세포수 측정/비교를 통한 세포분열 및 세포괴사 현상 관찰

: 펄스자기장을 인가하지 않은 세포주의 경우 최초 1×10^5 개에서부터 시간이 지남에 따라 점점 증가하여 48시간 후에는 약 9×10^5 개로 점진적인 세포수의 증가를 나타낸 반면, 자기장을 인가한 세포들의 경우 최초 1×10^5 에서 시간이 지남에 따라 점점 감소하여 48시간 후에는 약 3×10^3 개로 현저한 감소 추세를 나타내었

으며, 세포형태학적으로도 펄스자기장을 인가한 세포주에서 세포괴사가 유도되는 양상이 관찰되었음. 즉, 펄스자기장을 인가하지 않은 세포주에서는 정상적인 세포분열이 유도 되었지만, 펄스자기장을 6~48 시간 동안 지속적으로 인가한 세포주의 경우 시간이 지남에 따라 세포분열이 억제되고, 오히려 세포괴사가 점점 더 유도되는 것으로 추정됨.

나. 펄스자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별 실험대상 세포주의 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-4 (Interleukin-4) 유전자들에 대한 mRNA 발현량 비교 분석

: Fig. 2에 제시한 바와 같이 펄스자기장을 인가한 세포주에 비해 인가하지 않은 세포주에서 TNF- α 및 IL-4 유전자의 mRNA 발현량이 더욱 높은 것으로 나타남. 즉, 본 연구에서 적용한 펄스자기장에 의해 특정 사이토카인 유전자의 발현이 억제되는 것으로 추정됨.

다. 펄스자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별 실험대상 세포주의 특정 유전자에 대한 DNA 염기서열 비교 분석을 통한 DNA 구조 변화 여부 관찰

: 펄스자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별 실험대상 세포주 유래 TNF- α , IL-4 및 GAPDH 유전자의 DNA 염기서열 구조를 분석한 결과 DNA 염기서열 구조는 변화 없이 100% 동일하였음. 즉, 본 연구에서 적용한 펄스자기장은 DNA 염기서열 변이에는 영향을 미치지 않는 것으로 추정됨.

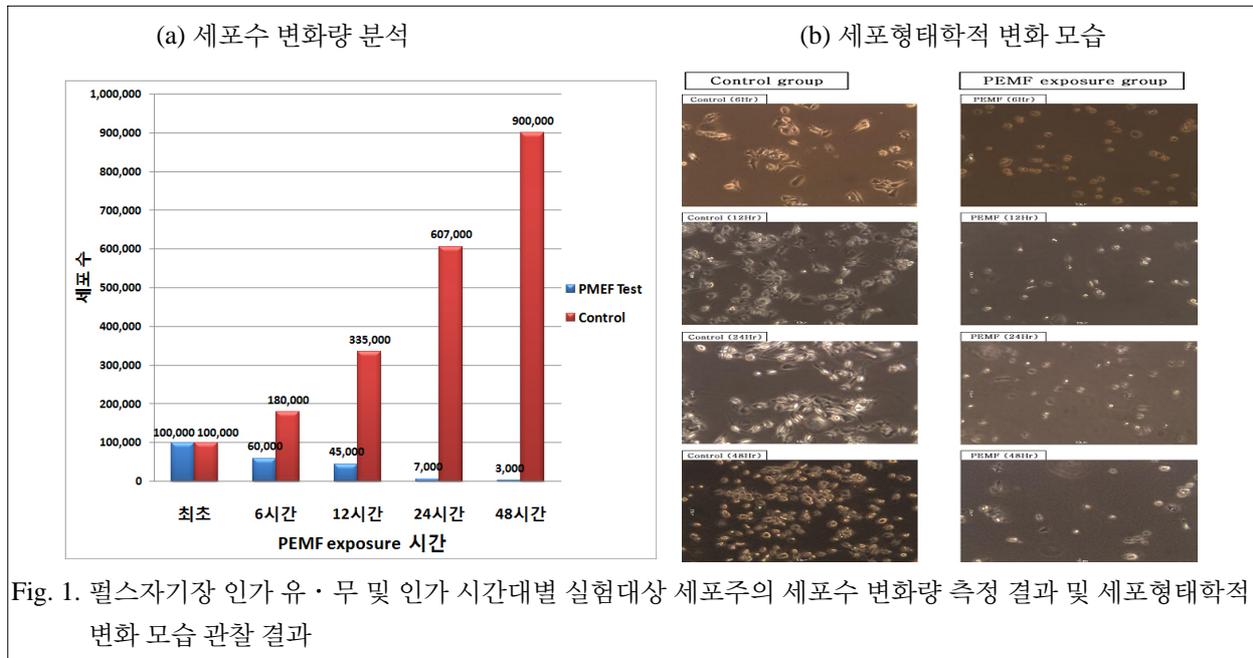


Fig. 1. 펄스자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별 실험대상 세포주의 세포수 변화량 측정 결과 및 세포형태학적 변화 모습 관찰 결과

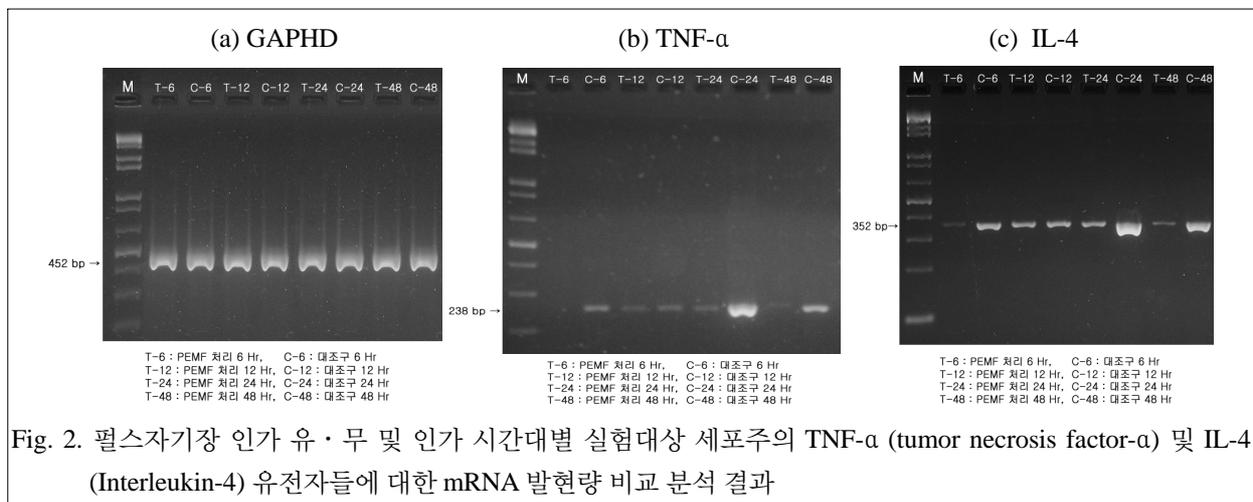


Fig. 2. 펄스자기장 인가 유·무 및 인가 시간대별 실험대상 세포주의 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-4 (Interleukin-4) 유전자들에 대한 mRNA 발현량 비교 분석 결과

4. 결론

본 연구에서 쥐 호흡기성 백혈구 암세포주를 대상으로 고강도의 펄스자기장을 6~48시간 동안 지속적으로 인가한 경우 세포분열이 억제되고, 세포괴사가 유도될 뿐만이 아니라 특정한 사이토카인 계통 유전자들의 mRNA 발현이 억제되는 등 특정세포주에 대해 펄스자기장이 분명한 영향을 미치는 것으로 나타남. 차후 정상 백혈구세포주 및 기타 세포주 등에 대한 비교 실험이 수반되어야 할 것이며, 더불어 보다 다양한 펄스자기장 강도와 인가 시간조건의 다변화 실험을 통해 보다 면밀하게 특정 세포주에 대한 펄스자기장의 효과를 분석할 필요성이 있음.

5. 참고문헌

- [1] Donnellan, M. et al.(1997) Cell. Biol. Int. 21(7), 427-439.
- [2] Fini, M. et. al.(2005) Biomed Pharmacother. 59, 388-394.
- [3] STOLFA, S. et. al.(2007) Physiol. Res. 56(suppl. 1): S45-S49.