

## Elongated Life-span, Decreased Thymic Lymphoma Incidence and Expressed Common Genes in High- and Low-dose-rate Irradiated AKR/J Mice

Sukchul Shin, Yumi Kang, Kwanghee Yang, Chasoon Kim, Jiyoung Kim, Sunyoung Nam,  
Seungjin Choi, Heesun Kim\*

Radiation Health Research Institute, KHNP, 388-1, SSangmun-dong, Dobong-ku, Seoul 132-703, Korea  
\*E-mail: hskimdvm@khnp.co.kr

Keyword : High- and low-dose-rate, life-span, thymic lymphoma, AKR/J mice, common genes

### Introduction

It has been well known that high dose or high-dose-rate of ionizing radiation could impair DNA repair and induce cancer or genetical disorders (1). However, the effect of low-dose radiation is not well identified, and a number of studies are currently under way using in-vitro and in-vivo systems. This study was designed to explore whether low-dose-rate (LDR) (0.07 cGy/hr) total body irradiation could suppress the development of thymic lymphoma in AKR/J mice. In addition, radio-sensitive genes among high- and low-dose-rate radiation exposed mice were analyzed using methodology of whole genome microarray.

### Materials and Methods

#### Animals

AKR/J mice (Female, 7 weeks) used in this study. All experiments were handled in accordance with the guidelines for animal experiments of the Radiation Health Research Institute (RHRI).

#### Irradiation

AKR/J mice were separated for irradiation (0 and 4.5 Gy). The gamma ray generator (IBL 147C, CIS Bio International, USA) was used for

high-dose-rate (HDR) irradiation ( $^{137}\text{Cs}$ , 0.8 Gy/min). Long-term Low-dose-rate Irradiation Facility and subjected them to radiation environment of dose-rate of 0.07 cGy/hr until the final accumulated dose reached 4.5 Gy.

#### Thymic lymphoma

We bred mice in Long-term Low-dose-rate Irradiation Facility and dead mice were autopsied. In the autopsy, the mice were specified as cancer incidence when the thymus weight was more than twice as heavy as that before irradiation.

#### Microarray

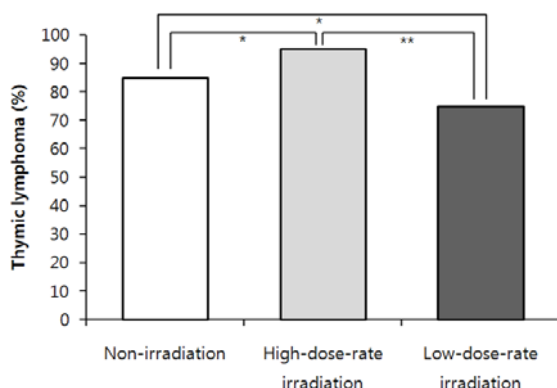
We analyzed gene profiles in thymus using Agilent oligo microarray (44K, 60-mer oligonucleotide). Microarray slides were scanned with a GenePix 4000B scanner and the scanned image were analyzed using GenePix v6.0 software to obtain the signal intensity of spots. Raw data was normalized by median normalization method.

### Results and Discussion

#### Survival rates

Mice cared in a LDR irradiation environment were shown higher survival rate after across from day 150 than those of mice exposed to HDR irradiation. Statistical analyses showed that the

life-span of LDR irradiated mice were significantly longer (243 days) than those of the HDR (208 days) and non-irradiated mice (230 days) ( $P = 0.02$ ). (data not shown).



**Fig. 1.** Incidence of thymic lymphoma in AKR/J mice after high- and low-dose-rate irradiation. \*  $P < 0.01$ : non-irradiated mice vs high- and low-dose-rate irradiated mice. \*\*  $P < 0.001$ : high-dose-rate irradiated mice vs low-dose-rate irradiation.

**Table 1.** Two fold commonly increased genes in thymus of high- and low-dose-rate irradiated mice.

| Genes    | GenBank Accession NO. | Functions                           |
|----------|-----------------------|-------------------------------------|
| Cd5l     | NM_009690             | Apoptosis                           |
| Fcgr3    | NM_010188             | Apoptosis / T and B-cell activation |
| Pycard   | NM_023258             | Apoptosis / p53 signaling pathway   |
| Lilrb3   | NM_011095             |                                     |
| Igh-6    | Z95476                |                                     |
| Fcgr2b   | NM_010187             | T and B-cell activation             |
| MGC60843 | AK007163              |                                     |

### Incidence of thymic lymphoma

The incidence of thymic lymphoma mice kept for about 9 months under a LDR irradiation environment indicated lower than those of non-irradiated and HDR irradiated mice by 10 and 20%, respectively (Fig 1).

### Microarray analysis

We profiled commonly detected genes in the

thymus of high- and LDR irradiated mice in terms of carcinogenic pathways. Interestingly, apoptosis (Cd5l, Fcgr3, and pycard) and T- and B-cell immune (pycard, Lilrb3, Igh-6, Fcgr2b, and MGC60843) related genes were commonly activated (Table 1). We profiled commonly expressed genes in sampled thymus of high- and LDR irradiated mice. However, DNA damage or their repair related genes has been not observed. This result probably suggested that the damaged DNA has repaired at early stage of life (2).

## Conclusion

The data from this study demonstrates that a strong reduction effect of LDR irradiation (0.07 cGy/hr) in thymic lymphoma incidence contributed to elongate life-span. The commonly expressed apoptosis (Cd5l, Fcgr3, and pycard) and immune (pycard, Lilrb3, Igh-6, Fcgr2b, and MGC60843) related genes will be a potential radio-sensitizer for ionizing radiation. From these experimental studies it is evident that LDR whole body irradiation could be used in the planning of cancer treatment, and other measures such could be added to further promote the efficacy of cancer radiotherapy.

## REFERENCES

1. B. Bennett, M. Repacholi and Z. Carr, Health Effect of the Chernobyl Accident and Special Health Care Programs. Report of the UN Chernobyl Forum Expert Group "Health". (2006).
2. L. Huang, A. R. Synder and W.F. Morgan, Radiation-induced genomic instability and its implications for radiation carcinogenesis. *Oncogene* 22,5848-5854 (2003).

## EPR을 이용한 손톱의 수분 영향 분석

최훈\* · 성인복\* · 이병일\* · 임영기\*  
방사선보건연구원

E-mail: 93105117@khnp.co.kr

중심어 (keyword) : EPR, ESR, 손톱, 선량 평가

### 서론

여러 논문에서 사람의 손톱을 이용한 선량 평가에 대한 연구를 확인 할 수 있다[1]. 사람의 손톱은 치아를 이용하는 경우보다는 측정 시료의 준비 및 측정이 간편하다는 장점이 있다.[2] 약간의 문제점은 방사능 노출에 의해 발생하는 라디칼과 샘플 준비 과정에서 필연적으로 발생될 수밖에 없는 라디칼의 구분이 쉽지 않다는 점이다.[3] 몇몇 논문에서 샘플 준비 과정에서 발생하는 BKS (Background signal), MIS (Mechanically induced signal)에 대해 언급해 놓았다. 이 신호들은 물을 이용한 샘플 처리 과정에서 많은 부분 제거 할 수 있는데, 이는 치아의 BKS를 제거하는 방법과 유사하다. 치아와 손톱의 약간의 차이는 시간의 흐름에 대한 BKS, RIS의 변화가 조금 다르다는 것과 특히 손톱의 경우 샘플내의 수분 함량에 따라서 EPR 신호의 세기에 영향이 있다는 점이다.[4, 5] 그러므로 이번 연구에서는 샘플 처리 과정과 수분 함량에 따른 영향을 알아보았다.

### 재료 및 방법

실험에 사용한 샘플은 5명의 지원자에게서 여러 번에 걸쳐서 획득하였다. 이 샘플들은 그림 2에서 알 수 있듯이 시간의 흐름에 대한 질량 변화 관찰 부분과 그림 1, 4에 나와 있는 신호의 시간에 대한 변화 및 샘플 준비과정의 차이에 의한 EPR 변화를 알아보았다. 측정 장비는 “EMX spectrometer”이고, cavity 내에 넣는 관은 quartz tube(직경 5mm)를 사용하였다. 그리고 손톱의 신호를 정확하게 확인하기 위하여 cavity의 밑 부분에 같은 quartz tube를 이용하여 망간을 설치하였다. 측정 조건은 microwave power 2mW, modulation amplitude 5gauss, 측정횟수는 10

번으로 하였다. 방사선 조사는 본원에 있는 IBL 437C 장비를 이용하였다.

### 결과 및 고찰

손톱의 샘플처리 직후의 신호와 24시간 이상 경과한 샘플의 신호를 그림 1에서 확인 할 수 있다.

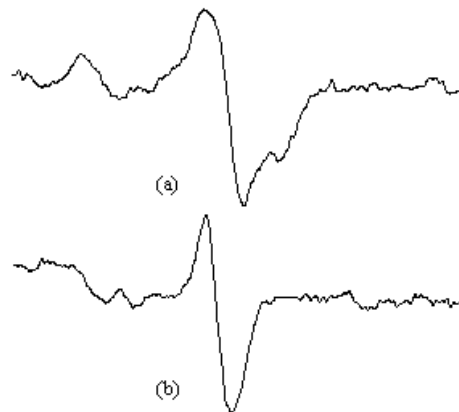


그림 1. (a) 손톱 샘플 처리 직후 신호, (b) 샘플처리 24시간 후 신호

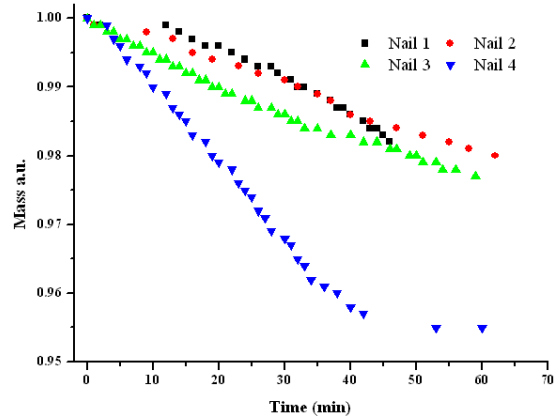


그림 2. 시간 흐름에 대한 질량 변화

이 신호의 변화는 샘플 처리 직후에 발생하는 MIS의 소멸이 가장 큰 원인이고, 이 신호의 존재 때문에 초기 샘플 수거 후 ERP 측정의 어려움이 있다.

그림 2에서는 시간의 흐름에 대해 샘플의 질량 변화를 확인한 결과이고, 이 질량 변화는 샘플에 존재하고 있던 수분 때문으로 생각된다. 샘플간의 수분의 차이는 초기 샘플 준비 과정에서 발생하는 BKS의 신호 크기에 커다란 영향을 준다. 또한 초기 1분간의 물처리를 통해서 존재하고 있는 BKS 신호의 확연한 감소를 확인 할 수 있었다. 물 처리 1분후에 추가 선량을 조사하여 선량 평가한 결과를 그림 3에 나타내었다.

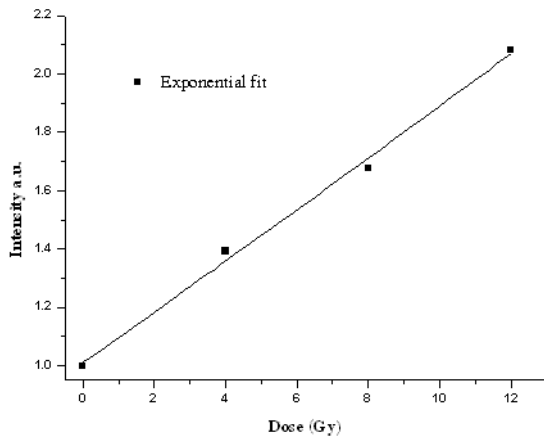


그림 3. 1분간 물 처리 후 4Gy 씩 추가 조사하여 측정된 EPR 신호

이 연구의 주된 관심 부분인 손톱 샘플 준비과정의 차이가 신호의 크기에 어느 정도의 영향을 주는가에 대한 실험 결과가 그림 4에 나타나 있다.

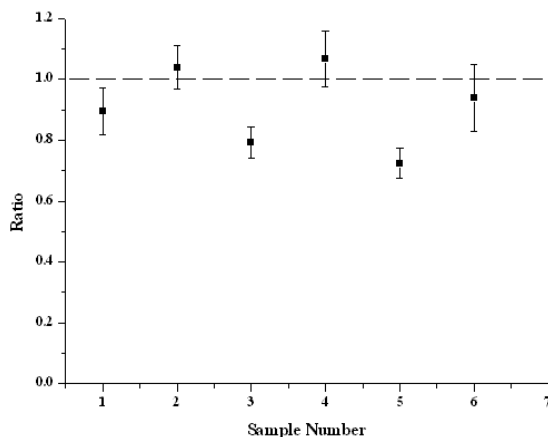


그림 4. Cutting 후 조사한 샘플과 조사 후 cutting한 샘플의 EPR 신호

동시에 준비된 샘플의 반쪽 부분은 일반적으로 실험에 사용되는 방식인 cutting 후 조사하여 신호를 측정하였고, 나머지 반쪽은 전체를 조사 후 cutting하여 실제 손톱에 RIS가 발생된 후 BKS, MIS가 발생된 상황을 재연 하였다. 두 비교 그룹간에 샘플 크기와 샘플 처리 횟수를 동일하게 하여 준비과정에서 발생 될 수 있는 차이를 최소화 하였다.

결과에서 알 수 있듯이 더욱 실제 상황에 가까운 샘플 준비 과정의 EPR 신호가 약간 큰 것으로 나타났다.

## 결론

손톱의 기본 EPR 신호를 확인하였고, 시간의 흐름에 대한 신호 변화도 알 수 있었다. 샘플 준비과정에서 필연적으로 발생하는 기계적 stress와 손톱이 함유하고 있는 수분이 EPR 신호에 많은 영향이 있음을 확인하였다.

실제로 방사선이 조사된 손톱을 측정하는 과정과 cutting 후 조사하여 측정하는 경우와의 차이를 확인하였고, 앞으로 손톱을 이용한 선량평가에 대한 연구에 이 방법을 활용하는 것이 실제적임을 확인하였다.

## 참고 문헌

1. M. C. R. Symons, H. Chandra and J. L. Wyatt. Electron paramagnetic resonance spectra of irradiated finger-nails: a possible measure of accidental exposure. *Radiation Protection Dosimetry* 58(1), 11-15 (1995)
2. International Atomic Energy Association. Use of electron paramagnetic resonance dosimetry with tooth enamel for retrospective dose assessment. IAEA Technical Documentary No 1331 (2002).
3. R. A. Reyes, Alexander Romanyukha, C. Olsen, F. Trompier, L. A. Benevides. Electron paramagnetic resonance in irradiated fingernails: variability of dose dependence and possibilities of initial dose assessment. *Radiat. Environ. Biophys* 48, 295-310 (2009)
4. R. A. Reyes, Alexander Romanyukha, F. Trompier, C. A. Mitchell, I. Clairand, T. De, L. A. Benevides, H. M. Swartz. Electron paramagnetic resonance in human fingernails : the sponge model implication. *Radiat. Environ. Biophys* 47, 515-526 (2008).
5. D. E. Wilcox, X. He, J. Gui, A. E. Ruuge, H. Li, B. B. Williams, and H. M. Swartz, Dosimetry based on EPR analysis of fingernail clipping. *Health Physics* 98, No 2 (2010).