2011년도 춘계학술발표회 논문요약집
대한방사선방어학회

NAC와 이온화 방사선이 어류 세포에 미치는 영향

김진규[1)], 한민[2)], 차민경[1)], 남지영[1)], 박지영[1)], 류태호[1)]
[1]한국원자력연구원 방사선과학연구소
[2](주)한국삼공
E-mail: jkkim@kaeri.re.kr

Key words : 방사선, 어류간암세포, GSH, NAC, 보호 효과

서 론

인간을 포함한 생물체는 환경에 존재하는 여러 유해인자의 복합적 영향을 받는다. 특히 방사선이나 유해 화학물질이 복합적으로 생물체에 미치는 영향은 예측이나 평가가 쉽지 않다. 자연 방사선 뿐 아니라 인공적으로 사용되는 이온화 방사선은 생체 내에서 활성산소와 자유라디칼을 생성하는데 이는 세포손상이나 사멸을 유발하기도 한다 [1].

PLHS-1는 소형 어류의 일종인 *Poeciliopsis lucida* 간암세포에서 유래된 세포주로 수환경 독성평가에 널리 이용되는 공시재료이다. 영양보조제로도 이용되고 있는 *N*-acetyl-L-cysteine (NAC)는 시스테인 공여물질로서 유독물질과 자유라디칼로부터 세포를 보호할 수 있도록 시스테인을 공여하여 세포내 글루타치온 (GSH) 수준을 높여주거나 직접 자유라디칼을 소거하는 역할을 한다. NAC가 세포자연사에 관여하는 효소를 조절함으로써 방사선 방어효과를 나타낸다는 것이 보고되어 있다 [2].

본 연구에서는 NAC를 농도별로 처리한 어류 간암세포에 이온화 방사선을 조사하고 GSH의 변화와 세포생존율을 평가함으로써 NAC가 세포보호 효과를 나타내는지를 확인하고자 하였다.

Materials and Methods

Poeciliopsis lucida 간암세포인 PLHC-1 세포를 5% FBS가 첨가된 이글최소배지에 배양하였다. 배양기내 가습, 5% CO_2 및 30℃ 조건으로 75㎠ flask에서 배양하였으며 3~5일 마다 1:4의 비율로 계대 분주하였다.

방사선 조사 전에 배지에 NAC를 0.05~10 mM로 첨가한 후 ^{60}Co 선원 (선원강도 7.4 PBq)을 이용하여 100~500 Gy 감마선을 조사하였다.

세포 생존율을 측정하기 위해서 방사선 조사 후 상등액 100 ㎕를 제거한 배지에 MTT (thiazol blue tetrazolium bromide)용액 100 ㎕를 첨가하고 30℃에서 4시간 배양한 다음, 형성된 formazan crystal을 용해시키고 ELISA reader로 570 nm 흡광도를 측정하였다. 세포내 GSH 수준은 Cayman kit를 이용하여 분석하였다.

Results and Discussion

NAC를 함유한 배지에서 24시간 배양하였을 때 0~10 mM 농도범위에서 세포 생존율이 농도-의존적으로 증가하는 것으로 나타났다 (Fig. 1). 그러나 NAC 농도가 20 mM을 초과하는 경우 오히려 세포생존율이 낮아져 22.5 mM에서는 대조군의 61%, 25 mM에서는 대조군의 11%로 생존율이 급감하였다. 이러한 결과는 NAC가 세포분열과 생장을 촉진하는 유효 범위는 20 mM 이내이며, 그 이상의 고농도는 세포독성을 유발한다는 것을 의미한다. 일정 농도 이하에서는 NAC가 항산화 작용을 하지만 고농도에서는

산화제 (pro-oxidant)로 작용함으로써 산화스트레스를 유발하여 세포독성을 나타낸 결과로서 Sprong [3]의 보고와도 일치한다.

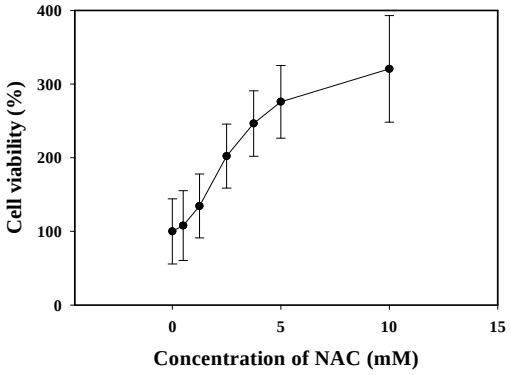

Fig. 1. Effect of NAC on viability of PLHC-1 cells *in vitro*. Cell viability was assessed by the MTT assay 24 hours after NAC treatments. Data are presented as the percentage of control viability.

방사선 조사 세포에서 GSH 농도는 크게 저하되지만 NAC와 방사선을 복합처리한 세포의 경우는 세포내 GSH가 감소하지 않고 일정한 수준으로 유지되었다 (Fig. 2). 이는 NAC 작용으로 인하여 방사선-유발 손상이 경감되었다는 것을 의미하는 연구결과이다.

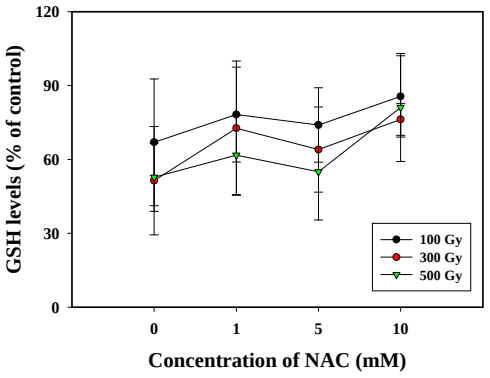

Fig. 2. Intracellular GSH levels measured in the cells treated with radiation only and in combination with NAC.

Conclusion

NAC는 시스테인 공여물질로서 일정 농도범위에서는 항산화작용 및 세포보호 효과를 나타낸다. 그러나 고농도에서는 세포독성을 유발하여 세포의 분열과 생장을 억제하는 것이 확인되었다. 이온화 방사선은 세포의 사멸을 유발하지만 NAC를 복합처리하면 세포내 GSH 수준을 유지시키거나 증가시킴으로써 세포보호 효과를 나타낸다. PLHC-1 어류 간암세포는 LD_{50}이 250 Gy에 달하는 방사선저항성 세포로서 방사선과 유해 화학물질의 복합적 위해성을 평가하는데 효과적으로 적용할 수 있는 장점을 가진다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부에서 시행하는 주요사업의 지원으로 수행되었으며 이에 감사를 표합니다.

REFERENCES

1. Kim, J.H., Kim, J.K., Yoon, Y.D., 2004. Evaluation of biological effects of low concentrations of mercury chloride(II) and ionizing radiation in the prepubertal male rats. Korean J. Environ. Biol. 22:411-418.
2. Kelly, G.S.. 1998. Clinical applications of N-acetylcysteine. Alternative Medicine Review 3:114-127.
3. Sprong, R.C., Winkelhuyzen-janssen, A.M., Aarsman, C.J., van Oirschot, J.F., van der Bruggen, T., van Asbeck, B.S., 1998.Low-dose N-acetylcysteine protects rats against endotoxin-mediated oxidative stress, but high-dose increases mortality. Am. J. Respirat. Crit. Care Med. 157:1283-1293.