

Co-60 γ 線 照射가 병아리의 F낭, 흉선 및 비장의 酵素 組織化學的 變化에 미치는 影響

群山實業專門大學 放射線科

李 東 明

Abstract

The Effects of Co-60 γ -irradiation causing Enzyme Histochemical Changes of Bursa Fabricius, Thymus and Spleen in Chicken

Dong Myoung Lee

*Dept. of Radiotechnology, Kunsan Junior College,
Chon Buk-Do, Korea*

In an attempt to find out the effects of the irradiation on the lymphatic organs of birds, a total of 40 chickens (4 week old) were selected at random and allotted to control and experimental groups.

The experiments were irradiated Co-60 γ -ray/400 rads, and then the enzyme histochemical activity of Bursa Fabricius (BF), thymus and spleen and hematological changes were compared with those of controls for 30 days (24 hrs., 5, 10, 20 and 30 days). The results obtained were summarized as follows:

1. The activity of acid phosphatase (ACP) of the reticuloendothelial cells of BF, thymus and spleen and the epithelia of BF of the experiments were increased significantly from the early experimental terms and then returned to the same level of controls through the late experimental terms.
2. The activity of nonspecific esterase (NSE) of the constituent cells with exception of the lymphocytes in BF, thymus and spleen of experiments were increased significantly from the early experimental terms and then returned to the same level of control through the late experimental terms.
3. The lymphocyte percentage, total erythrocytes and hemoglobin of the experiments were severely decreased from early experimental terms and then increased to the normal levels of them in controls.

I. 緒 論

放射線 生物學者 Bergonie와 Tribondeau(1906)는 포유동물에서 細胞의 種類에 따라 그 감응의 정도가 다르다고 보고 하였다.^{1,27)}

또한 전리방사선이 生物體에 照射되었을 때에는 그 照射量에 따라서 細胞의 變性, 괴사와 조직 및 기관의 위축과 機能變化 등이 나타날 뿐아니라 染色體에 이상이 초래되어 突然變異 등 遺傳的 장애가 유발된다는 실험보고도 있었다.^{2,3,19)}

특히, 조혈장기는 放射線 照射時 가장 민감하게 반응하는 신체조직의 일환으로 血球 母細胞를 포함하는 각 반응단계의 血球要素들이 방사선유해 자극에 따르는 각 단계의 變性, 괴사 등의 변화를 일으키는 데^{4,7)} Hulse는 생쥐에 X線照射時 線量에 따른 血液細胞의 變化像을 보고한 바 있고 權 등은 발육기의 생쥐에 방사선물질 ³²P를 복막내에 內部照射하여 血液像의 變化를 보고하였는 바^{4,8,14,18)} 이들 대부분의 예가 人體 및 포유동물에 대한 放射線 照射에 의한 연구이며 鳥類에 대한 방사선의 영향을 관찰한 연구보고는 대단히 희귀한 실정이다.

또한 생식기에서는 정자와 난자의 생식모세포와 생장과정에 있는 각 단계 생식세포를 포함하는 유약세포에 해자극이 민감하게 나타나는 것으로 알려져 있다.^{6,10)} 한편 각종 종양조직에 대한 放射線 照射時에는 미숙형 종양세포에 해작용이 선택적으로 작용하기 때문에 치료목적에 적응되어 왔다.²¹⁾

그런데 최근에는 방사선 免疫分野에서도 연구가 진행 중이어서 放射線 照射가 닭의 림프조직에서의 IgG 형광 양성세포의 출현이나 X線照射 後에 bursa Fabricius에 출현하는 일과성 형질세포 형성을 초기 성장단계의 병아리에 미치는 영향에 대하여 組織學的, 組織化學的 方法으로 보고한 바 있다.^{11,13,15,16)}

이에 저자는 4주령 병아리에 400rads의 Co-60 γ 線을 1회 전신 조사하여 bursa Fabricius, thymus 및 spleen에 미치는 영향을 酵素 組織化學的 方法에 의해 經時的으로 관찰하여 유의한 所見을 얻었기에 보고한다.

II. 材料 및 方法

실험동물은 부화 후 4주령 병아리 40마리를 대조군과 실험군에 각각 20마리씩 공여하였으며, 사료는 전 실험기간 동안 육계용 전기사료(우성 사료계)를 급여 하면서 일반육계 사양지침에 따라 평사로 사육하였다.

Co-60 γ 線 照射方法은 Gamma Field(USA, NIOK CO.)를 사용하여 照射野(20×20cm)를 결정 한 후, source-skin distance를 60cm로 하여 해당되는 線量率 57.8 Gy/min로 400rads를 照射하였다.

Co-60 γ 線 照射 後 經時的으로 24시간, 5日, 10日, 20日, 30日에 2~4마리씩의 병아리를 희생시켜 bursa Fabricius, thymus 및 spleen을 절제한 후, 組織標本을 제작하였으며 조직은 -20°C에서 급냉 동결시켜 Cryostat Chamber에서 6 μ 의 냉동절편을 만든 후에 acid phosphatase(以下 ACP로 뵘함) 染色은 Burstone法⁵⁾에 따라 non specific estrase(以下 NSE로 뵘함) 染色은 Yam法²⁸⁾에 따라 施行하였다. 酵素 組織化學的 染色標本의 變化像은 각 실험기별로 대조군과 실험군별로 비교관찰 하였다. Lymphocyte, RBC, Hg을 조사하기 위한 채혈은 γ 線 照射 前後에 상완정맥에서 血液 약 2ml를 채취하여 림프구 백분율은 현미경 관찰로 측정하였으며, 총 적혈구수 및 혈색소치는 cell dyne 900(blood autoanalyzer)로 측정하였다.

III. 結 果

1. 酵素 組織化學的 所見

1) Bursa Fabricius의 ACP

대조군 병아리는 여포 변연부에 위치하는 上皮細胞와 세망내피계 세포 내에서 ACP 活性이 경도로 양성반응을 나타내었다(Fig.1).

γ 線 照射 後 24시간 실험군에서는 ACP 活性度가 bursa의 上皮細胞에서 고도로 증가되었을 뿐아니라 여포 변연부 및 여포 내의 세망내피계 세포에서도 고도의 活性度를 나타냈다(Fig.2).

γ 線 照射 後 5日群에서는 上皮細胞의 ACP 活性度가 24시간군과 유사한 정도로 인정되었으나, 세망내피계의 ACP 活性度는 24시간군보다 경도로 감퇴된 所見이었다.

γ 線 照射 後 10日 실험군에서는 上皮細胞를 비롯하여 여포 내 세망내피계 세포의 ACP 活性度가 5日群과 同一한 수준이었는데, γ 線 照射 後 20日群과 30日群에서는 上皮細胞를 비롯한 세망내피계의 ACP 活性度가 대조군과 유사한 수준으로 감소되었다.

2) Thymus의 ACP

대조군의 흉선 ACP 活性度는 bursa Fabricius 의 活性度보다 낮은 수준이었으며, γ 線 照射 後 24시간 실험군에서는 여포 주변부와 여포 내 세망내피계 세포에서 ACP 活性度가 고도로 증가 되었다.

γ 線 照射 後 5日群에서는 ACP 活性度가 고도로 증가한 세망내피계 세포가 여포내에 산발적으로 존재하는 곳을 제외하고는 대부분의 여포조직이 대조군 수준으로 活性度가 감퇴되었으며, γ 線 照射 後 10日群, 20日群, 30日群에서도 ACP 活性度가 대조군 수준으로 감퇴되었다.

3) Spleen의 ACP

대조군에서는 비장의 적색수나 백색수 同一하게 세망내피계 세포의 活性度가 bursa Fabricius나 thymus보다 경도로 증가된 상태였는데(Fig.3), γ 線 照射 後 24시간군에서는 세망내피계의 活性度가 더욱 고도로 증가된 상태였다(Fig.4).

γ 線 照射 5日 실험군에서는 ACP 活性度가 증가되었으나 24시간군보다는 다소 감퇴된 所見이었고, 10日群에서는 5日群보다 더욱 감퇴된 소견을 보였으며, 20日群과 30日群에서는 대조군과 同一한 수준으로 活性度가 감퇴되었다.

4) Bursa Fabricius의 NSE

대조군의 NSE 活性度는 bursa Fabricius 上皮層과 여포 내 세망내피계 세포들에서 선택적으로 경도의 活性를 나타냈다.

γ 線 照射 後 24시간 실험군에서는 上皮細胞層과 여포 내 세망내피계 세포들의 活性度가 대조군에 비하여 중등도로 증가되었으며 γ 線 照射 後 5日群, 10日群, 20日群, 30日群에서는 대조군과 거의 유사한 정도로 낮은 活性度를 나타냈다.

5) Thymus의 NSE

대조군은 bursa Fabricius와 同一한 수준의 NSE 活性度를 나타내었다(Fig.5).

γ 線 照射 後 24시간 실험군에서는 대조군보다 NSE의 活性度가 고도로 증가되었으며(Fig.6), γ 線 照射 後 5日群 역시 24시간군과 同一한 수준으로 고도의 活性度를 나타냈다. γ 線 照射 後 10日群에서는 여포간 결합조직 내에서 5日群과 同一한 수준이었으며, γ 線 照射 後 20日群과 30日群에서는 대조군 수준으로 감퇴되는 경향이였다.

6) Spleen의 NSE

대조군에서는 bursa Fabricius와 同一한 수준의 NSE 活性度를 나타냈다.

γ 線 照射 後 24시간 실험군과 5일 실험군에서는 대조군보다 중등도의 NSE 活性度를 나타냈으며, γ 線 照射 後 10일군, 20일군과 30일군에서는 대조군과 同一한 수준으로 낮은 活性度를 나타내었다.

2. 血液所見

대조군의 혈액치는 lymphocyte가 78.5 ± 4.9 , RBC는 238.4 ± 3.7 , Hg의 量은 17.3 ± 1.1 이었다 (Table.1).

放射線 照射에 따르는 lymphocyte변화치는 24시간군에서는 유의성 있는 급격한 감소치(69.6 ± 4.3)를 보인 후, 시간이 경과함에 따라 지속적으로 상승하여 10일 후에 최고치(82.4 ± 3.7)를 나타내었고, 그후 다시 감소하는 경향이였다.

放射線 照射 後 RBC치를 24시간군(215.0 ± 5.7)과 5日群(202.8 ± 6.3)에서 유의성있는 감소치를 나타내었고, 그후로는 완만하게 증가하여 대조군과 同一한 수준을 나타내었다.

放射線 照射 後 Hg치는 24시간군(15.4 ± 0.6)부터 20일군(15.3 ± 0.7)까지 지속적인 감소치를 나타내다가 3日群(20.3 ± 0.8)경과시 유의성 있는 증가치를 나타내었다.

IV. 考 察

4주된 병아리에 400 rads의 Co-60 γ 線을 전신 조사하였을 때, bursa Fabricius의 ACP 活性度는 조사 후 24시간군에서 上皮細胞에 고도로 증가되었을 뿐아니라 여포 변연부 및 여포 내 세망내피

Table 1. The changes of lymphocyte, RBC and Hb. after γ -irradiation(400 rads) in 10 chicken

Day Blood sample	Before irradiation	24hrs after irradiation	5 days after irradiation	10days after irradiation	20days after irradiation	30days after irradiation
Lymphocyte (%)	78.5 \pm 4.9	69.6 \pm 4.3*	76.5 \pm 2.0	82.4 \pm 3.7	72.0 \pm 3.9	70.4 \pm 1.4
RBC (10 ⁴ /mm ³)	238.4 \pm 3.7	215.0 \pm 5.7*	202.8 \pm 6.3*	216.2 \pm 4.3	224.8 \pm 3.8	314.0 \pm 5.7
Hb (g/dl)	17.3 \pm 1.1	15.4 \pm 0.6	14.9 \pm 1.6	15.1 \pm 1.4	15.3 \pm 0.7	20.3 \pm 0.8*

Values are means \pm SD *P \leq 0.05 All data are in comparison with before γ -irradiation.

계 세포에서도 고도의 活性度를 나타내었는데, 김¹⁵⁾은 부화 후 60일된 병아리에 400R의 X-ray 照射群에서 X線 照射 後 24시간군에서는 hematoxylin eosin 염색상 수질 중심부는 세포 배열이 성글었고 수질 주변부에서는 다수의 대형세포와 산재된 세망세포가 관찰되었으며 여포 상피세포에 가까운 수질내와 세망세포 주위에는 완전히 성숙한 형질세포가 군집상으로 출현하였고 methyl green pyronin 염색상과 H&E염색에서 피질과 수질에서 관찰되었던 성숙 형질세포가 소형의 호pyronin성 세포였다고 보고하였으며 5일군에서는 정상 대조군과 同一하다고 하였는데, 본 실험에서 ACP 活性度는 上記한 것과 같이 24시간군에서 강한 活性度를 나타낸 것과 同一하게 γ 線 照射 後 5日群과 10日群에서도 上皮細胞와 세망내피계에서 ACP活性度가 24시간군과 비슷한 수준을 나타내어 본 실험동물에서 ACP의 活性度가 더욱 장기간 지속적으로 나타남을 관찰할 수 있었다.

이와같은 결과는 본 실험동물이 더욱 미숙한 병아리를 사용한 것과 상관 관계가 있는지를 실험 규명해야 할 것이다.

백·김²³⁾, 이·김²⁰⁾ 등은 400R 照射된 흰쥐의 흉선에 미치는 영향을 24시간군에서는 피질과 수질의 구분이 잘 안되며 남아있는 대부분의 세포들은 핵농축에 빠져 있었으며 수질의 中心部에는 호염기성의 세포질을 가진 형질세포들의 증식을 관찰하였다. 또한 비장의 경우는 400R 조사군(24시간군)에서 백색수 특히 여포는 대단히 위축되어 있는데 심한 색소세포의 출현이 兪例에서 나타난다고 보고하였고, 또한 결절상으로 형질세포의 증

식도 관찰하였는데, 적색수내에서도 결정상 형질 세포 증식이 일어난 장소에 대식세포, 망상세포들이 존재하여 출현한다고 하였는데, 본 실험에서는 bursa Fabricius, thymus에서도 ACP 活性度가 실험초기에 고도로 증가하였을 뿐아니라 spleen에서도 더욱 현저하게 세망내피계 세포내에서 그 活性度가 증가 되었다. 이상과 같은 결과들은 400 rads 放射線 照射에 의해서 림프조직을 포함하는 각 발육단계의 림프구들이 放射線 照射 後 대량 파괴되므로 이들 파괴된 조직의 탐식처리와 복잡한 방어기전의 일환으로서 세망내피계 세포들의 活性度가 증가하는 것으로 사료된다.

NSE는 림프구를 제외한 수종의 백혈구와 골수 세포 세망내피계 세포에서 그 活性度를 나타내는 효소로서^{12,26)} 본 실험군의 초기 방사선 조사 직후에 活性도와 거의 유사한 수준으로 증강한 것은 ACP 活性도와 同一한 림프구를 제외한 각종 세포 성분의 活性化를 나타내는 소견으로 사료되며 앞으로 alkaline phosphatase 등 더욱 많은 酵素 組織化學的方法을 利用하여 해당 細胞의 活性과 變化像을 연구 규명해야 될 것으로 생각된다.

γ 線을 照射한 실험 초기에 실험군의 림프구 백분율과 총 적혈구수와 혈색소치가 同一한 수준으로 감소되었다가 시간의 경과에 따라 정상치로 환원된 혈액치를 나타낸 점은 그간 放射線 照射가 골수와 림프장기 등 각 조혈장기에 혈구 모세포를 비롯한 혈구요소 세포들을 파괴 시킨다는 보고^{8,17,22,24,25,27)}와 同一한 소견으로서 본 실험에서 3種 림프장기에 ACP와 NSE活性度の 증가와 깊은 상관 관계가 있는 것으로 사료된다.

V. 結 論

방사선 조사가 조류의 림프장기에 미치는 영향을 구명하기 위한 연구의 일환으로, 부화 후 4주령 병아리 40마리를 대조군과 실험군으로 나누어 실험군에 Co-60 γ 선 400 rads를 조사한 후 24시간, 5일, 10일, 20일, 30일 간격으로 희생시켜 F상과 흉선과 비장의 효소 조직화학적 변화와 혈액치의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 실험군의 F상과 흉선 및 비장의 세방내피계 세포와 F상의 상피세포층에 ACP는 실험초기에 고도로 활성화되었는데 실험경과에 따라 점점 감퇴하여 대조군과 동일한 수준으로 환원되었다.
2. 실험군의 F상과 흉선 및 비장의 림프구를 제외한 구성 조직세포내 NSE 역시 실험 초기에 고도로 활성화 되었다가 실험경과에 따라 점점 감퇴하여 정상 대조군과 동일한 수준을 유지하였다.
3. 실험군의 림프구 백분율, 총 적혈구수 및 혈액색소치는 실험 초기에 고도로 감소하였다가 실험 경과에 따라 정상 수준으로 증가하는 경향이였다.

參考文獻

1. Bergonie and L.Tribondeau : Interpretation de quelaues resultats de la radiotherapie et essai de fixation dum technique rationelle : "In Radiation Biology" (Donald J. Pizzarello) 1982 CRC Press. p. 168, 1906.
2. Breimer, L.H. : Ionizing radiation-Induced mutagenesis. Br. J. Cancer. Vol. 57. pp. 6~18, 1988.
3. Bender, M.A., H.G.Griggs and J.S. Bedford : Mechanisms of chromosomal aberration production. III, Chemical and ionizing radiation. Mutation Research, Vol. 23. pp. 197~212, 1974.
4. Berke, H.L., Wilson, G.H. and Berke, Z. S. : Size distribution changes in peripheral

lymphocytes of the rats after X-irradiation. Radiat. Res. 37 : 181, 1969.

5. Burstone, M.S. and Kaplow, L.S. Cytochemical demonstration of acid phosphatase in hematopoietic cells in healthy and in various hematological disorders using azo dye technique. J.Histochem. Cytochem. 12 : 805, 1964.
6. Eric, J., Hall, M.A., D.Sc. : Radiology for the Radiologist, arper & Row Co. New York. pp. 205~271, 1972.
7. Faleeva, Z.N. : "The recovery of myelopoietic cells after irradiation. A quantitative Study in the Rat." Brit. J. Hematol., 7 : 430~441, 1961.
8. Hulse, E.V. : "The recovery of myelopoietic cells after irradiation. A quantitative study in the rat." Brit.J. Hematol., 7 : 430~441, 1961.
9. Helde, N., Wablber, T., Foressberg, A., Swedin, B., Clemedson, C.J. and A. Nelson. : Radiation dose measurements and leukocyte count in rabbits. Acta radiol., 50 : 477~489, 1958.
10. J.Yeul, Kim : Basic Radiology. Kho Moon Gak. Seoul Korea. pp. 109~167, 1987.
11. Jan, I.Thorell, Steven, M.Larson. : Radioimmunoassay and related techniques. The C.V.Mosby Co., Saint Louis, pp. 109~218, 1978.
12. J.Darnell, H.Lodish, D.Baltimore : "Molecular cell Biology." Scientific American Books, Inc. 1986.
13. 김병기, 김주성 : X선 전신 조사가 가계 림프 조직에서의 Ig형광양성세포의 출현, 가톨릭대학 의학부 논문집, 제14, 제4호.
14. 권달관, 박일영 : 방사선(^{32}P)이 어린 생쥐의 골수에 미치는 영향에 관한 정량적 연구, 대한방사선사 협회지, 16 : 155~162, 1984.
15. 김선무 : X선 전신조사 후에 Bursa Fabricius 에 출현하는 일과성 형질세포에 대하여, 대한병리학회지, 제14권, 제1호, 1980.
16. Lerner, K.G., Glick, B. and Mc Duffie,

- F.C. : Role of the Bursa of Fabricious. IgG and IgM production in the chicken. J. Immunol. 107 : 493~503, 1971.
17. 이상석 : Effects of Cobalt-60 Gamma Ray Irradiation on Blood cells and Enzyme activity of Albino rats. 대한방사선기술학회지, 제8권 제2호, 47-63, 1985.
 18. 이유근, 유주용 : 방사선 조사가 혈소판에 미치는 영향, 대한혈액학회지, 제21권 제2호, 1986.
 19. Lyon, M.F. and B.D.Cox : The induction by X-rays of chromosome aberrations in male Guinea pigs, Rabbits and Golden Hamsters, Mutation Research, Vol.29, pp. 407~422.
 20. 이재철, 김영제 : X선 조사 흰쥐의 흉선에 있어서 형질세포 기원에 대한 관찰, 가톨릭대학교 의학부 논문집, 26 : 24~234, 1974.
 21. 박성혜 등 : 자궁경부암 환자에 있어서 방사선 치료에 의해 자궁경질도말 표본에 나타난 세포 변화에 관한 연구, 대한병리학학회지, 제22권 제3호, 1988.
 22. 박영순 : Co-60 γ 선 외조사가 흰쥐의 혈액상에 미치는 영향, The Medical Journal of Chosun Univ, 제14권 1호, 152~160, 1989.
 23. 백남석, 김영제 : γ 선 조사 흰쥐의 임파조직에 있어서 형질세포 기원에 관한 고찰, 가톨릭대학교 의학부 논문집, 제12집, 1967.
 24. Rugh, R. and G.Pardo, Age and Hematological recovery from acute whole-body irradiation. Radiat. Res., 20 : 300~419, 1963.
 25. Sung, J.K. and C.K.Cheong. Effect of whole body gamma irradiation on blood picture in mice. Kor.Vet. Res., 15(2) : 153~159.
 26. Stanley, L.Robbins, Ramzis, Cotran. : "Pathologic Basis of Disease." W.B.Saunders Co.1979.
 27. Tribukait, B. Total hemoglobin and blood volume of the rat after sublethal whole-body radiation with roentgen rays. Acta Radiol. Ther. Physi. Biol., 3(1) : 1~10.
 28. Yam, L.T., Li, C.Y. and Crosby, W. M. : Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. Am.J.Clic. Pathol. 55 : 283, 1971.

Legend for Figures



Fig. 1. Moderate ACP activity is observed in the reticuloendothelial cells and epithelia of bursa Fabricius in control group. Acidphosphatase stain by Burstone method, X200.

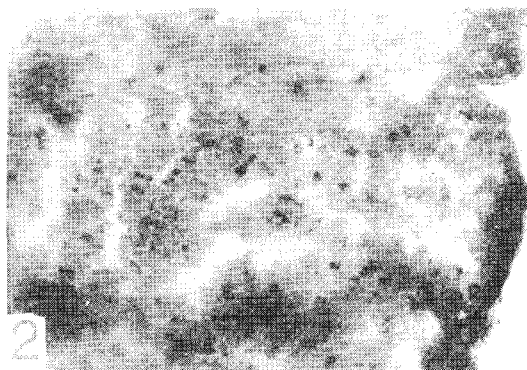


Fig. 2. ACP activity is highly increased in bursa Fabricius experimental group, 24 hrs after irradiation, X200.



Fig. 3. ACP activity of the spleen is increased slightly than Bursa Fabricius in control group. X200.



Fig. 4. ACP activity is highly increased in the spleen of experimental group, 24 hrs after irradiation, X200.



Fig. 5. Moderate NSE activity is observed in the cells excepted lymphocyte of the thymus in control group, Nonspecific esterase by Yam method, X200.

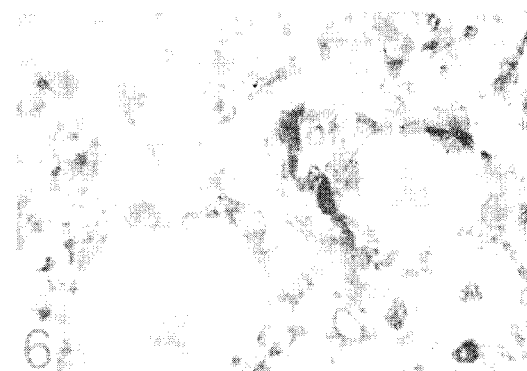


Fig. 6. NSE activity is highly increased in thymus of experimental group, 24 hrs after irradiation, X200.