

방사선을 일회 부분조사한 흰쥐의 간 담도계장해

이준일

대구보건전문대학 방사선과

초 록

방사선이 간 담도계에 미치는 영향을 검토하기 위하여 선형가속장치에 의한 4MV X선 10, 15 및 20Gy를 흰쥐의 간 일부에 각각 조사한 후 1, 2, 4 및 8주에 간 담도계 손상의 지표로 이용되고 있는 혈중 alkaline phosphatase 및 bilirubin의 함량을 측정 검토한 결과 먼저 alkaline phosphatase의 활성은 전 조사선량군에서 상승경향을 나타내었으며, 특히 20 Gy 8주군에서 현저한 상승을 나타내었고, 혈중 bilirubin의 함량도 시간 경과와 함께 상승경향을 나타내었으며, 20 Gy 8주군은 유의하게 상승하였다.

이상의 실험 성적을 종합해 볼때 방사선 조사로 인한 간 담도계의 장애는 조사된 선량에 따라 10 및 15 Gy군에서는 기간 경과와 함께 점차 회복되는 경향이었으나, 20 Gy군에서는 오히려 증가된 것으로 보아 부분조사에서도 20 Gy가 한계선량임을 확인할 수 있었으며, 방사선치료시 간의 일부가 조사야에 포함되지 않도록 하는 주의가 필요하다고 생각된다.

I. 서 론

방사선은 생체를 구성하는 물질과 상호작용을 일으키며, 그 에너지를 물질에 주므로서 물질을 구성하는 분자 및 원자에 전리 및 여기를 일으키므로, 물리화학적 및 화학물의 조성변화로 인한 세포의 기능장애를 야기시킨다. 장애의 정도가 높은 경우에는 그 세포의 증식이 저지되거나, 세포가 사멸되므로 방사선이 조사된 부위의 조직을 파괴시키는 성질을 가지고 있다.^{1,2)} 방사선의 이런 작용을 이용하여 각종 악성종양을 치료할 목적으로 방사선 치료학이 정립되면서 우수한 성능의 방사선치료기기의 개선 보급은 물론 치료기술의 개선 발전으로 악성종양 환자에 대한 치료효과는 날로 증가되고 있다. 그러나 방사선은 종양조직의 치료효과 뿐 아니라 정상조직에 대해서도 유사한 영향을 나타내므로 이에 따른 부작용 역시 무시할 수 없는 실정이다.

방사선이 생체에 미치는 영향에 대해서는 각 장기별로 많은 보고가 있었다. 간의 경우, 과거에는 방사선에 대하여 감수성이 비교적 낮다고 인식되어 왔으며, Hall과 Whipple,³⁾ Warren과 Whipple⁴⁾ 그리고 Martin과 Rogers⁵⁾ 등은 심부 방사선치료 후 간의 장애가 초래되는 경우는 거의 없다고 보고하였다.

그러나 근년들어 선형가속장치등 우수한 방사선치료기기가 개발 이용되면서 현저한 피부장애 없이 복부에 충분한 심부선량을 조사할 수 있게 되므로서 복부의 각종 악성종양 치료에 방사선을 이용하게 되었으며, 이로 인한 방사선 간장애 또한 적지 않게 발생⁶⁻¹¹⁾함을 알게 되었다. 이와 같이 방사선에 의한 간의 변화가 알려지게 되면서 상복부의 방사선치료시에는 간을 차폐하거나 간의 일부가 조사야에 포함되지 않도록 주의¹²⁾하기에 이르렀다.

이에 본 연구에서는 현재 국내에서 방사선치료에 가장 일반적으로 이용되고 있는 선형가속장치¹³⁾에 의한 고 에너지 X선을 흰쥐 간의 일부분에 10, 15 및 20 Gy를 각각 1회 조사한 후 1, 2, 4 및 8주에 걸쳐 간기능 관련 parameter들의 측정을 시행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료 및 기기

실험동물은 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 동일조건에서 사육하여 체중 330g 내외의 외관상 건강한 정상대조군 7마리, 방사선 조사군 각 7마리씩 84마리로 구분하여, 91마리를 사용하였다.

방사선 조사 및 조사계획에는 일본전기주식회사(NEC)에서 제작한 선형가속장치인 NE-LAC-1004 및 방사선치료계획용 computer인 THERAC 2300을, 생화학적검사에는 DuPont사에서 제작한 Dimension clinical chemistry system을 각각 이용하였다. 그리고 실험에 사용한 시약은 DuPont사의 Dimension clinical chemistry system용 kit를 구입 사용 하였으며, 기타 모든 시약은 특급내지 1급품을 사용하였다.

2. 방 법

1) 방사선 조사

선형가속장치에서 발생된 4 MV X선은 피하 1cm 깊이 에 최대선량점이 형성²⁾되므로, 조사부위에 0.5cm 두께의 vaseline gauze bolus를 사용하여 피하 0.5cm 깊이점에 최대선량이 조사 되도록 하였다.

조사조건 및 방법은 source-tissue distance 80cm, 선량을 2Gy/min으로 흰쥐를 처치하기 8, 4, 2 및 1주전에 ether로 마취시켜 고정대에 묶은 상태에서 우측 상복부에 2.5cm × 2.5cm 조사야로 10, 15 및 20Gy의 선량을 각각 1회 조사하였다. 한편 정상대조군 설정은 Nam¹⁴⁾ 및 Lee¹⁵⁾등의 보고에 준하였다.

2) 동물의 처치

방사선을 조사하지 않은 대조군 및 처치 8, 4, 2, 및 1주전에 각 군별로 방사선을 조사한 흰쥐를 같은날 처치하였다. 실험동물은 처치전 12시간 동안 물만주고 금식시킨 상태에서 생체리듬의 일중변동을 고려하여 일정시간에 ether로 마취시켜, 복부 정중선을 따라 개복한 다음 복부대동맥으로 부터 채혈하였으며, 채혈된 혈액은 실온에서 30분간 방치하여 응고시킨 다음 2,500 rpm으로 15분간 원심분리하여 얻은 혈청을 실험에 사용하였다.

3) 생화학적 검사

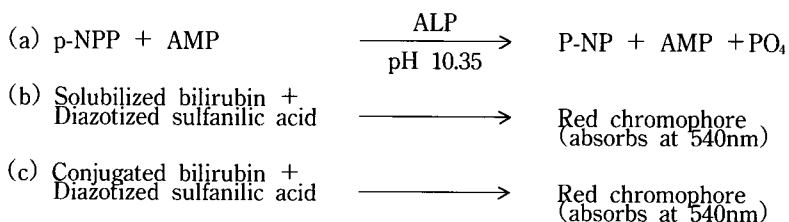


Fig. II - 1. Principles of procedure

(a) Alkaline phosphatase, (b) Total bilirubin, (c) Direct bilirubin.

혈청을 이용한 alkaline phosphatase활성은 Bower 미치 McComb법¹⁶⁾을 수정한 Rej법¹⁷⁾으로, total bilirubin 및 direct bilirubin함량은 Doumas의 변법¹⁸⁾으로 Dimension 자동생화학분석기를 이용하여 Fig. II-1에 나타난 것과 같은 측정원리¹⁹⁾로 각각 측정하였으며, indirect bilirubin함량은 total bilirubin 및 direct bilirubin함량에서 구하였다. 그리고 측정 결과는 alkaline phosphatase활성은 u/l로, bilirubin함량은 $\mu\text{mol/l}$ 로 표시하였다.

한편 실험결과의 통계처리는 minitab program을 이용하여 대조군에 대한 방사선 조사군의 t-test를 실시하였다.

III. 결 과

혈중 alkaline phosphatase(u/l)의 활성 및 bilirubin($\mu\text{mol/l}$)의 함량을 측정한 결과는 tables III-1~4에 나타난 바와 같이 방사선을 조사하지 않은 대조군에서의 혈중 alkaline phosphatase의 활성은 113.70 ± 15.60 을 나타내었으며, total, indirect 그리고 direct bilirubin은 각각 2.20 ± 0.14 , 0.80 ± 0.22 그리고 1.40 ± 0.20 을 나타내었다.

한편 방사선을 조사한 군에서는 먼저 alkaline phosphatase는 대체적으로 상승경향을 나타내었으며, 특히 20 Gy조사군에서는 방사선조사 후 1주에는 74.70 ± 10.20 ($P < 0.001$)으로 유의한 감소를 나타내었으나, 시간 경과와 함께 계속 상승하여 8주에는 574.30 ± 31.10 ($P < 0.001$)으로 현저한 증가를 관찰할 수 있었다.

Table III-1. Changes of serum alkaline phosphatase values(u/l) in various dose irradiated rats

	10 Gy	15 Gy	20 Gy
Control	113.70 ± 15.60	113.70 ± 15.60	113.70 ± 15.60
1 Week	129.70 ± 17.70	$140.10 \pm 22.50^*$	$74.70 \pm 10.20^{***}$
2 Weeks	123.40 ± 12.30	109.30 ± 19.50	126.70 ± 12.00
4 Weeks	$137.00 \pm 20.60^*$	$152.70 \pm 27.20^{**}$	$136.70 \pm 18.10^*$
8 Weeks	$136.00 \pm 19.20^*$	136.70 ± 25.10	$574.30 \pm 31.10^{***}$

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are the mean \pm SD for 7 rats.

Significantly different from control group (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

Table III-2. Changes of serum total bilirubin values($\mu\text{mol/l}$) in various dose irradiated rats

	10 Gy	15 Gy	20 Gy
Control	2.20 ± 0.14	2.20 ± 0.14	2.20 ± 0.14
1 Week	1.94 ± 0.28	$1.94 \pm 0.10^{**}$	2.40 ± 0.20
2 Weeks	2.34 ± 0.48	2.43 ± 0.44	2.37 ± 0.34
4 Weeks	$2.77 \pm 0.35^{**}$	$2.76 \pm 0.38^{**}$	$1.97 \pm 0.10^{**}$
8 Weeks	$3.07 \pm 0.33^{***}$	$3.06 \pm 0.57^{**}$	$3.79 \pm 0.20^{***}$

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are the mean \pm SD for 7 rats.

Significantly different from control group (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

Table III-3. Changes of serum indirect bilirubin values($\mu\text{mol/l}$) in various dose irradiated rats

	10 Gy	15 Gy	20 Gy
Control	0.80 \pm 0.22	0.80 \pm 0.22	0.80 \pm 0.22
1 Week	0.77 \pm 0.18	0.86 \pm 0.14	1.11 \pm 0.23*
2 Weeks	0.97 \pm 0.30	1.19 \pm 0.46	1.14 \pm 0.32*
4 Weeks	1.21 \pm 0.35*	1.30 \pm 0.36*	0.64 \pm 0.20
8 Weeks	1.44 \pm 0.24***	1.39 \pm 0.49*	1.53 \pm 0.33***

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are the mean \pm SD for 7 rats.

Significantly different from control group (*P < 0.05, ***P < 0.001).

Table III-4. Changes of serum direct bilirubin values($\mu\text{mol/l}$) in various dose irradiated rats

	10 Gy	15 Gy	20 Gy
Control	1.40 \pm 0.20	1.40 \pm 0.20	1.40 \pm 0.20
1 Week	1.17 \pm 0.25	1.09 \pm 0.11**	1.29 \pm 0.18
2 Weeks	1.37 \pm 0.22	1.24 \pm 0.05	1.23 \pm 0.08
4 Weeks	1.56 \pm 0.17	1.46 \pm 0.14	1.33 \pm 0.21
8 Weeks	1.63 \pm 0.26	1.67 \pm 0.13*	2.11 \pm 0.35***

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are the mean \pm SD for 7 rats.

Significantly different from control group (*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001).

Total bilirubin의 함량도 전 조사선량에서 상승경향으로, 8주에는 10, 15 및 20 Gy조사군에서 각각 3.07 ± 0.33 (P<0.001), 3.06 ± 0.57 (P<0.01) 그리고 3.79 ± 0.20 (P<0.001)을 나타내었다.

그리고 indirect bilirubin의 함량변동도 조사 후 시간이 경과함에 따라 상승하는 경향을 나타내었으며, 8주에는 10, 15 및 20 Gy군에서 각각 1.44 ± 0.24 (P < 0.001), 1.39 ± 0.49 (P < 0.05) 및 1.53 ± 0.33 (P < 0.001)으로 유의 있는 증가를 관찰할 수 있었다. 그러나 20 Gy 조사군 4주에서는 일시적으로 대조군 이하로 감소하는 것을 볼 수 있었다.

또한 direct bilirubin의 함량도 비슷한 경향으로 시간이 경과함에 따라 상승하였으며, 20 Gy군 8주 (2.11 ± 0.35 , P < 0.001)에는 유의하게 증가 하였다.

IV. 고 찰

간은 어느정도 손상을 입어도 매우 빨리, 그리고 잘 재생^{20, 21)}되는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 손상에 대한 재생능력은 물론 비교적 방사선에 대한 저항력이 강하다는 견해 때문에 과거에는 방사선 치료시 방사선에 의한 간장해는 흔히 무시⁶⁾되어 왔다. 그러나 난소암의 복강내 전이 및 상복부 악성림프종 등 각종 복부종양에 X선 혹은 ⁶⁰Co γ 선 원격조사에서 간이 조사야에 포함되는 경우, 방사선 치료 후 간장해가 유발되는 경우가 적지않았으며, 방사선 간염으로 사망한 예들이 보고됨에 따라 복부 종양의 치료를 위한 방사선 조사시에는

간 일부의 차폐는 물론, 방사선 방호물질의 투여, 분할조사방식의 선택 등 간손상을 다소라도 감소시켜 치명적인 간장해를 피하기 위한 노력이 행해지고 있다.^{6, 22)}

Ingold 등⁹⁾은 간전체를 포함하는 상복부 방사선 치료를 시행한 난소암, Hodgkin씨병 등 40증례의 환자중 13예가 방사선 간염이 출현하였으며, 이 중 35 Gy 이상이 조사된 3예가 방사선 간염으로 사망하였다고 하였다. 이때 명명된 방사선 간염은 간종대, 황달, 복수 및 우상복부동통, 전신 권태감 등의 소견이 있는 경우로서 대부분은 방사선 조사 후 4~6주 이내에 나타난다고 하였다. 그리고 조직학적인 소견으로는 간류동의 변화, 출혈, 세포위축 및 경미한 중심정맥의 확장 등이 관찰되고, 기능검사소견으로는 alkaline phosphatase의 상승이 가장 뚜렷하였으며, 간장해는 조사된 방사선량과 조사기간사이에 상호관계가 있으므로 3~4주간에 30~35 Gy정도가 안전한 한계라고 하였다.

본 연구에서는 방사선에 의한 간 담도계의 손상을 알아보기 위하여 선형가속장치에 의한 4 MV X선 10, 15 및 20 Gy를 간의 일부에 각각 1회 조사한 후 1, 2, 4 및 8주에 혈청 alkaline phosphatase활성 및 bilirubin의 함량을 측정하였다. 먼저 간 담도계 질환, 즉 담즙정체시에 증가하는 것으로 알려져 있는 혈중 alkaline phosphatase²³⁻²⁵⁾의 활성은 조사선량에 비례하여 증가하였으며, 특히 20 Gy를 조사한 8주군에서는 현저한 상승을 나타내고 있어, Shapiro²⁶⁾ 및 Dalrymple등²⁷⁾의 보고와 Chung과 Yoo⁶⁾ 등의 토끼의 간에 2회에 걸쳐 20 Gy를 조사한 후 alkaline phosphatase의 활성이 현저히 상승 하였다는 보고와 유사한 것으로, 방사선 조사로 인하여 간 담도계 조직세포가 심하게 손상 받았다는 것을 암시하고 있다. 또한 담도계를 통해 배설되는 bilirubin의 혈중농도^{25, 28)}가 direct(conjugated form) 및 indirect(unconjugated form) 모두 증가하고 있는 것으로 보아, 방사선 조사로 인해 간실질세포의 손상으로 bilirubin의 포함반응이 억제되었을 뿐만 아니라 담도배설 장애로 말미암아 포합형 bilirubin함량도 증가된 것으로 사료되어 진다.

이상의 실험성적들과 문헌상의 지견들을 종합해 볼때 간 일부에 조사된 방사선으로 인한 간 담도계의 손상은 조사선량에 따라 10 및 15 Gy에서는 시간 경과와 함께 점차 회복되는 경향이었으나, 20 Gy에서는 오히려 증가된 것으로 보아 부분조사에서도 20 Gy가 한계선량임을 확인할 수 있었으며, 방사선 치료시 간의 일부가 조사야에 포함되었을 경우에도 간 담도계 장애가 유발될 수 있으므로 복부종양의 방사선 치료시 조사야 선정에 각별한 주의가 필요하다고 생각된다.

V. 결 론

의료용 선형가속장치에 의한 4MV X선 10, 15 및 20Gy를 흰쥐의 간 일부에 각각 조사한 후 1, 2, 4 및 8주에 간 담도계 손상의 지표로 이용 되고 있는 혈중 alkaline phosphatase 및 bilirubin의 함량을 측정하여 방사선이 간 담도계에 미치는 영향을 검토하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

먼저 Alkaline phosphatase의 활성은 전 조사선량군에서 상승경향을 나타내었으며, 특히 20 Gy 8주군에서 현저한 상승을 나타내었고, 혈중 bilirubin의 함량도 시간 경과와 함께 상승경향을 나타내었으며, 20 Gy 8주군은 유의하게 상승하였다.

REFERENCES

1. Lim, C. S., A study on the effects of X-irradiation causing morphological changes of the rat liver. Chonbuk national univ. Graduate school, Chonju(1985).
2. Kim, Y. I., Radiation therapy. Sinkwang publishers, Seoul(1992)
3. Hall, C. C. and Whipple, G. H., Roentgen ray intoxication : Disturbance in metabolism produced by deep massiver dose of hard roentgen rays. Am. J. M. Sc., 195 : 453(1919).
4. Warren, S. L. and Whipple, G. H., Roentgen ray intoxication : A study of sequence of clinical, anatomical and histological changes following a unit dose of X rays. J. Esper. Med., 35 : 203(1922).
5. Martin, C. L. and Rogers, F. T., Intestinal reaction to erythema dose. Am. J. Roentgenol., 10 : 11 (1923).
6. Chung, W. K. and Yoo, H. J., An experimental study on the effects of Roentgen irradiation upon the liver of the rabbit. J. Korea univ., 12 : 263-273(1975).
7. Kang, I. W., Radiation hepatitis in rat. Seeoul national univ. Graduate school. Seoul(1980).
8. Ogata, K., Hizawa, K., Yoshida, M., Kitamuro, T., Akagi, G., Kagawa, K. and Fukuda, F., Hepatic injury following irradiation : a morphologic study. Tokushima J. Exp. Med., 9 : 240(1963).
9. Ingold, J. A., Reed, G. B., Kaplan, H. S. and Bagshaw, M. A., Radiation hepatitis. Am. J. Roentgenol., 93 : 200(1965)
10. Reed, G. B. and Cox, A. J., The human liver after radiation injury. A form of venoocclusive disease. Am. J. Pathol., 48 : 597(1966).
11. Lewin, K. and Millis, R. R., Human radiatoin hepatitis. A morphologic study with emphasis on the late changes. Arch. Pathol., 96 : 21(1973).
12. Wharton, J. T., Delclos, L., Gallager, S. and Smith, J. P., Radiation hepatitis induced by abdominal irradiation with the cobalt 60 moving strip technique. Am. J. Roentgenol., 117 : 73(1973)
13. Kim, Y. H., A study on the Utilization of high cost radiation therapy units in Korea. Seoul national univ. Public health graduate school. Seoul(1989).
14. Nam, Y. S., A study on the immune regulatory effects of the liver factor liberated from experimentally damaged hepatocytes. Hanyang univ. Graduated school. Seoul(1987).
15. Lee, K. J., An experimental study on the condition of irradiation and the skin reaction by 6 MV X-ray. Ewha womans univ. Graduate school. Seoul(1984).
16. Bower, G. N. and McComb, R. B., A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. Clin. Chem., 12 : 70(1966).
17. Rej, R., Effect of incubation with Mg on the measurement of alkaline phosphatase activity. Clin. Chem., 23 : 1903-1911(1977).
18. Doumas, B. T., Perry, B. W., Sasse, E. A., et al., Standardization in bilirubin assays : Evaluations of selected methods and stability of bilirubin solution. Clin. Chem., 19 : 984-993(1973).
19. DuPont, Dimension clinical chemistry system procedure manuals(1992).
20. Harkness, R. D., Regeneration of liver. Brit. Med. Bull., 13 : 87(1957).
21. Weinbren, K., Regeneration of the liver. Gastroent., 37 : 657(1959)
22. Park, S. H., Choi, K. S., Kim, B. K., Kwon, Y. J. and Lee, J. B., Effect of Single or Fractionated X-Irradiation on the NP-SH and NP-SS of Rabbit Liver and Lung Tissues. Kor. J. physio., 4 : 131-137(1970).
23. Gutman, A. B., Serum alkaline phosphatase activity in disease of the skeletal and hepatobiliary

- system. *Am. M. Med.*, 27-875(1959).
24. Kaplan, M. M., Alkaline phosphatase. *Gastroenterology.*, 62 : 452(1972).
 25. Yi, K. N. and Kim, J. Q., *Clinical chemistry.* Euihak munwhasa Co. Seoul(1988).
 26. Shapiro, B., *Biochemical mechanisms in the action of radiation : The Biological Basis of Radiation Therapy.* J. B. Lippincott Co. Philadelphia(1966).
 27. Dalrymple, G. V., Gauden, M. E., Kollmorgen, G. M. and Vogel, H. H., *Medical radiation biology*(1st Ed.). V. W. Saunder Co., Philadelphia(1973).
 28. Lee, K. B., *Clinical pathology handbook,* Komunsa, Seoul(1991).

Hepatic Injury of Single Irradiation on Partially to the Rat Liver with 4MV X-Ray

Joon Il Lee, Ph. D.

Dept. of Radiotechnology, Taegu Health Junior College

Abstract

In order to investigate radiation effects on the liver, functional changes of liver were analyzed after irradiation. Doses of 10 Gy, 15 Gy and 20 Gy were exposed partially to the liver of male rats(Sprague-Dawley) with X-ray(4MV linear accelerator) at room temperature. On 1, 2, 4 and 8 weeks after irradiation, sera of the animals were compared with those of unirradiated animal by liver function tests.

Enzyme activities in sera such as alkaline phosphatase and concentrations of bilirubin in liver function tests.

The content of the activities of many enzymes including alkaline phosphatase in sera were increased slightly with increasing exposure dose in all experiments and the activities of these enzymes increased markedly in 20 Gy irradiated groups.

The contents of serum bilirubins including direct and indirect bilirubins increased continuously along with the time lapse after irradiation. However, in 20 Gy irradiated group, the content of serum bilirubin decreased slightly during 2 or 4 weeks after irradiation and increased markedly there after.

From these above results, functional changes of the liver were induced in all irradiated groups. Damaged liver was recovered along with time collapsed after irradiation to the doses of 10 Gy and 15 Gy while no recovery was detected within 8 weeks after irradiation to 20 Gy. These results suggest that careful attention must be paid to liver not to be included in exposure field in radiation therapy.