

방사선 조사에 의한 DNA Double Strand Breaks의 생성 및 회복에 미치는 인삼 알칼로이드 분획의 효과

원자력 병원 치료방사선과[†], 방사선 영향 연구실^{*}

조철구^{##} · 김태환^{*} · 류성렬^{##} · 고경환[#] · 김미숙[#]
김정희^{*} · 김성호^{*} · 윤형근[#] · 지영훈[#]

= Abstract =

The Effects of Alkaloid Fraction of Korean Ginseng on the Radiation-Induced DNA Strand Breaks

Chul Koo Cho, M.D.^{##}, Tae Hwan Kim, Ph.D.^{*}, Seong Yul Yoo, M.D.^{##}
Kyoung Hwan Koh, M.D.[#], Mi Sook Kim, M.D.[#], Jeong Hee Kim, Ph.D.^{*}
Seong Ho Kim, Ph.D.^{*}, Hyung Keun Yoon, M.D.[#] and Young Hoon Ji, M.S.[#]

Department of Therapeutic Radiology[†], Laboratory of Radiation Effect^{},
Korea Cancer Center Hospital, Seoul, Korea*

Purpose : To investigate the effect of alkaloid fraction from Korean ginseng on radiation-induced DNA double strand breaks (dsb) formation and repair in murine lymphocytes

Materials and Methods : We used the neutral filter elution technique to assay ⁶⁰Co γ ray-induced DNA double strand breaks formation and repair in C57BL/6 mouse spleen lymphocytes for evaluating the dose-response relationship in the presence of alkaloid fraction as a radioprotective agent. The lymphocytes were stimulated with phytohemagglutinin (PHA, 2 μ g/ml) to label ³[H]-thymidine. Isotope-labelled lymphocytes in suspension were exposed to 100 Gy at 0°C in the alkaloid fraction-treated group and elution procedure was performed at pH 9.6. The extents of formation of radiation-induced DNA double strand breaks and repair were compared respectively via strand scission factor (SSF) and relative strand scission factor (RSSF).

Results : Alkaloid fraction reduced the formation of double strand breaks with dose modification factor of 2.15, compared to control group. Rejoining of DNA dsb appeared to take place via two components. The first fast component was completed within 20.4 minutes, but the second slow component was not completed until 220.2 minutes after irradiation. About 30% of dsb formed by irradiation was ultimately unrejoined despite the administration of alkaloid fraction. The administration of alkaloid fraction had a great effect on the second slow component of repair; the half-time of fast component repair was not changed, but that of slow component was 621.8 minutes.

Conclusion : Neutral filter elution assay proved to be a very effective method to quantitate the extents of DNA dsb formation and its repair. By using this technique, we were able to evaluate the efficiency of alkaloid fraction from Korean ginseng as a valuable radioprotector. Alkaloid fraction can be used prophylactically to prevent or ameliorate the severe radiation damages in workers and neighbors around the atomic power plants. For more refined study, however, more advanced purification of alkaloid fraction will be needed in the near future.

Key Words : Alkaloid fraction, Double strand breaks, Neutral filter elution assay, Mouse spleen lymphocyte, Repair half-time, Slow component

서 론

방사선 및 동위원소의 의학적 이용 증가, 원자력 시설의 이용 증대 및 Chernobyl의 melt-down과 같은 핵 시설 사고의 발생 가능성과 핵 시설 주변지역의 방사성 물질에 의한 오염 가능성 및 우주 방사선에 의한 노출 증가 등으로 인하여 인체의 방사선에 대한 피폭 빈도가 증가할 것으로 생각되어지기 때문에 이에 대한 의료적 안전대책 수립이 시급하다¹⁻⁴⁾. 체내외의 오염 측정을 위해서는 간편하고 신속하며 정확한 생물학적 선량측정 방법과 제염에 대한 긴급 처치제의 개발 및 피폭시 생체 손상정도의 경감과 손상을 막아줄 수 있는 방어제의 개발이 필요한 실정이다. 현재까지 효과적인 방사선 방어제의 개발을 위해 많은 복합물질들이 합성되어 기초실험 및 임상적용을 시행하였으나, 약제 자체의 독성과 선택적 효과의 미비 등으로 인하여 인체에 적용하는데 많은 제약을 주고 있어서 새로운 방어제 개발을 위한 노력이 진행 중에 있다^{4, 5)}.

한국 인삼은 민간에서 옛부터 전래되어 왔던 약제로, 현재는 면역 증강 효과와, 항발암 및 항암효과가 상당히 있는 것으로 보고되어 있으나⁶⁻⁸⁾, 방사선의 생물학적 효과에 미치는 인삼의 영향에 대해서는 많이 연구되어 있지 않다. 1979년 Yonezawa 등이 인삼의 투여로 방사선에 의해 손상받은 조혈기관의 회복이 촉진되었음을 보고한 이래, 주로 인삼은 방사선에 의한 골수세포의 손상을 막아준다는지 혹은 회복을 촉진시키는 것으로 알려졌다⁹⁻¹¹⁾. 또한, 단백질의 합성을 촉진시켜 방사선에 손상받은 배양세포의 생존을 증가시켜 주며¹²⁾, 방사선에 의한 장의 손상을 막아 장출혈에 의한 사망을 줄여주는 것으로 보고되었다¹³⁾. 이러한

효과는 인삼의 여러 구성 성분 중 “물 용해분획 (water-soluble fraction)”에 의해 가장 현저히 나타나는 것으로 보고되었으나¹⁴⁾, 방사선에 대해 가장 효과적인 방어작용을 갖고 있는 구성 성분이 무엇인지는 아직 논란이 많다. Takeda 등이 한국 인삼의 추출물을 이용하여 DNA 손상에 대한 transition midpoint 를 상승시킴으로써, DNA 분자를 안정시켜 방사선 방어효과를 일으킨다고 보고하여 어느정도 인삼의 작용기전이 밝혀졌지만, 아직 이에 대한 연구가 미미하여 보다 더 많은 연구가 필요하다⁹⁾.

따라서 본 연구팀은 방사선 피폭에 대비하여 피폭자의 의료적 처치에 필요한 약제 개발을 위하여 biological response modifier (BRM) 중에서 효과가 있을 것으로 생각되는 한국 인삼을 이용하여 in vitro 실험 모델을 통한 방어효과를 관찰하고자 한다.

본 연구에서는 방사선에 대한 세포 죽음을 비교적 잘 반영해 주는 DNA double strand break 의 생성 및 이의 회복에 미치는 한국 인삼 추출물인 알칼로이드 분획의 효과를 C57BL/6 mouse 의 비장 임파구를 이용하여 관찰하고자 본 실험을 시행하였다.

대상 및 방법

⁶⁰Co γ 선에 의한 세포성 장해에 대한 방사선 방어제의 효능 평가법을 확립하기 위하여 C57BL/6 mouse의 정상 비장 임파구를 이용한 DNA double strand breaks (dsb)의 분석법을 설정하였으며, 그의 분석법을 통하여 인삼추출물의 방사선 방어효과에 대한 선량-효과관계를 수립하고, 방사선 방어제의 효능을 비교평가하였다.

이때 이용한 정상 비장 임파구는 phytohemag-

glutinin (PHA, 2 μg/ml) 를 첨가하여 배양한 후 일반적인 표식법에 따라 ³[H]-thymidine 으로 표식하였고, 방사선 조사는 0°C 에서 γ선을 100 Gy 조사하였으며, DNA strand breaks assay 는 neutral elution 분석법에 따라 DNA dsb 의 수율을 측정하였다. 방사선 방어제의 투여에 의한 억제 간의 효능 평가는 relative strand scission factor (RSSF) 을 산출하여 방사선에 대한 감수성을 파악하고, 각 방사선 방어제의 효능을 비교 평가하였다.

1. 정상비장림파구의 분리

6 주령 C57BL/6 마우스의 비장을 채취하여 Hank's balanced salt solution (HBSS) 으로 세척한 후 10ml 의 HBSS 를 넣은 60mm petri-dish 에서 세분하여 세포를 부유시켰다. 부유된 세포는 Ficoll-hypaque 용액 위에 중첩하여 400g에서 30분간 원심분리하였다.

2. 세포이식 및 방사성동위원소 표지

원심분리된 C57BL/6 마우스의 정상 비장 림파구의 세포배양은 37°C로 유지되는 5% CO₂ incubator (KMC-8409C, Vision Co.) 를 이용하였으며, 이들 세포의 배양은 10% fetal bovine serum (FBS), 100 unit penicillin, 10 μg streptomycin, 2mM L-glutamine 등이 첨가된 RPMI-1640 배지를 사용하였다. 분리된 세포는 5x10⁵ cell/ml 을 phytohemagglutinin (PHA, Sigma Chemical Co.) 2 μg/ml 이 첨가된 배지에서 44 시간 배양한 후 microculture assay 로 세포의 증식량을 측정하였다. ³[H]-thymidine의 표지를 위하여 Methyl-³[H] thymidine을 ml당 2 μCi를 첨가하여 4시간 더 배양하였으며, 각 이식된 세포는 ³[H] thymidine-free 배지에서 2시간 추가 배양하여 실험에 사용하였다.

3. 인삼의 알칼로이드 분획

1) 알칼로이드 분획 구입

본 실험에 사용된 알칼로이드 분획은 건취제약에서 제조하여 현재 Adaptagen 이라는 상품명으로 시판되고 있는 것을 제공 받은 것이다. 이 알칼로이드 분획은 정제되지 않은 것으로써, 아직 정확한 약리작용이 알려져 있지 않다.

2) 알칼로이드 분획 세포 독성 검사

한국 인삼중 백삼을 이용한 알칼로이드 분획의 독

성 및 적정 투여량을 파악하기 위하여 8주령의 N:GP 음성 비근교계 마우스의 정상 비장 림파구를 분리하여 사용하였으며, 분리된 세포를 ml 당 2x10⁶ cells 로 하여 96개 well (Corning, "cell wells") 당 100 μl씩 분주하여 48시간 동안 배양한것을 각각 첨가 혼합하여 세포성 독성과 세포 증식 효과를 liquid scintillation counter (Packard Co. TRI-GARB 4530)를 이용하여 관찰하였다(Table 1).

3) 알칼로이드 분획의 투여

한국 인삼(백삼)을 이용한 알칼로이드 분획의 방사선 방어효능을 평가하기 위하여 PHA를 첨가한 세포 배양과 방사성 동위원소를 표지하였으며, 알칼로이드

Table 1. Tritiated Thymidine Labelling Rate of Lymphoproliferation Induced by Ginseng Extract

Dose	N:GP mouse lymphocyte(cpm)*
NT**	7808 ± 682.2
50 μg/ml	11826.5 ± 1104.4
500 μg/ml	15978.6 ± 1367.2
5mg/ml	13988.8 ± 1442.7
50mg/ml	383.5 ± 92.7

* Mean ± S.D. of the counts per minute of tritiated thymidine incorporation by triplicate microcultures of 2x 155 spleen lymphocytes.

** NT : No treatment

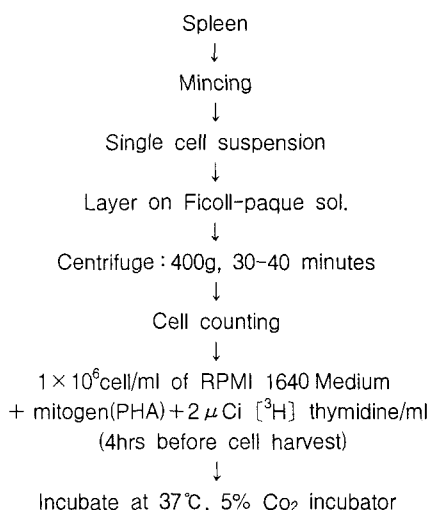


Fig. 1. Normal lymphocyte culture and labelling of radioisotope.

분획의 적정농도인 500 μg/ml 를 실험에 사용하였고, 그 투여시간은 방사선 조사 전 48시간에 투여한 후 DNA double strand breaks 생성율에 의하여 방사선 방어효능을 평가하였다.

4. 방사선조사

³[H]-thymidine 으로 표식된 정상 비장 임파구는 trypan blue 로 염색하여 hemocytometer 로 세포의 생존율을 측정하였으며, 각 실험군당 24-well culture plate (Flow Lab. Inc.) 의 3 well씩 구분하여 1x10⁶ cell/well씩 분주한 후 방사선 조사 과정에서 DNA double strand breaks 의 회복을 방지하기 위하여 culture plate 를 얼음 위에 놓고 방사선을 조사하였다.

본 실험에 사용된 방사선 조사 장치는 원자력병원 ⁶⁰Co teletherapy unit(theratron-780, LET=1.9 KeV/μm)로 부터 SSD 50 cm, 조사야 15x15 cm² 일때 secondary standardization을 한 Capintec dosimeter(Model 192) 이용하여 calibration을 시행하였다. 분당 280 cGy 의 선량률로 100 Gy 1회 조사하였으며,

방사선이 조사된 세포는 조사후 0, 30, 60, 90, 180분 동안 배양한 후 cold phosphate buffered saline (PBS)으로 10배 희석하였다.

5. Neutral Filter Elution Assay

본 실험에 이용된 neutral elution 법은 Kohn 등¹⁵⁾의 방법을 약간 수정하여 직경 25 mm, pore size 1.2 μm인 polyvinyl chloride filter (Gelman Sciences Inc.) 가 삽입된 filter holder (Gelman Sciences Inc.) 에 1x10⁶ cells 을 분주하고, cold PBS로 3회 세척한 후 Koval 및 Kazmar의 방법¹⁶⁾에 따라 pH 9.6의 lysing 용액 [0.05 M Tris (base), 0.05 M glycine, 0.025 M EDTA-disodium salt, 2% w/v SDS, 0.5 mg/ml proteinase K] 을 5 ml씩 통과시켜 세포를 용해하였다. Lysing 용액이 약 1 ml 남았을때 용액의 통과를 정지시킨 후 30 분간 incubation 하였으며, DNA dsb의 측정을 위하여 pH 9.6의 elution 용액 [0.05 M Tris (base), 0.05 M glycine, 0.025 M EDTA-disodium salt, 2% w/v SDS] 을 사용하였다.

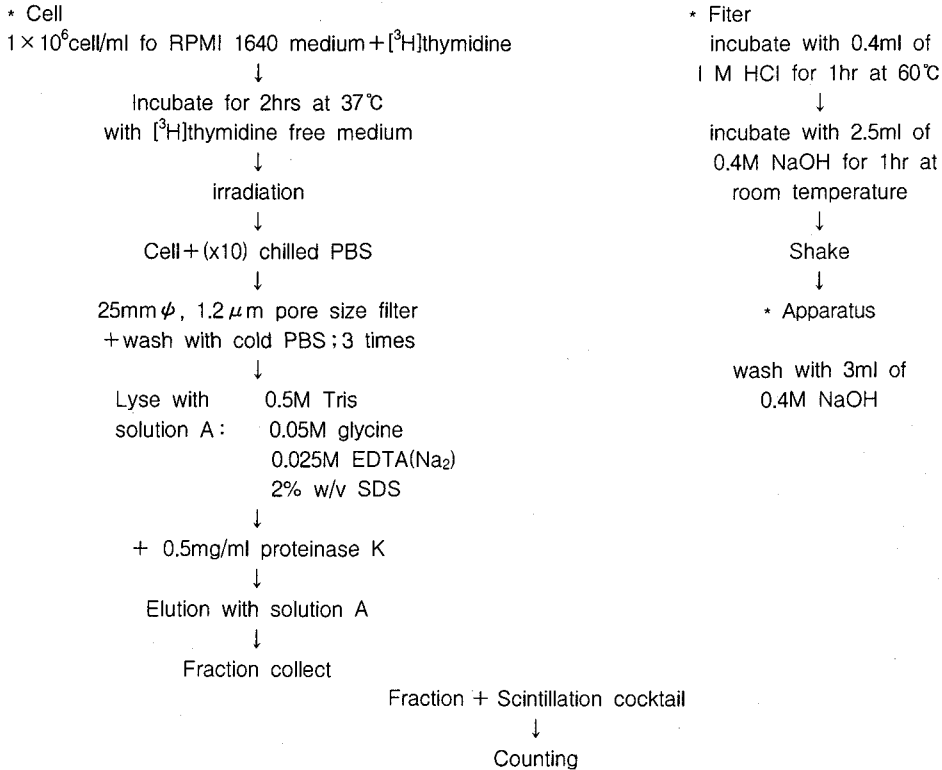


Fig. 2. DNA strand brdaks assay.

Lysing 및 elution 용액의 통과는 multichannel pump (Manostat cassette pump)를 이용하여 0.1 ml/분의 속도로 하였으며, elution 용액은 매 30분 간격으로 총 10회 회수하였고, 모든 실험의 각 과정은 암실 내에서 실시하였다. 그리고 elution 용액내 잔존 DNA의 양을 파악하기 위하여 filter holder로 부터 filter를 제거하고, filter holder는 0.4 M NaOH로 세척한 후 scintillation counter에 의하여 방사능을 측정하였다 (Fig. 1, 2).

6. Liquid Scintillation Counting

각 실험군의 lysing 용액, 회수된 각 fraction의 elution 용액 및 filter holder의 세척용액으로 부터 각각 1 ml 씩의 시료를 채취하였다. Filter 또는 채취된 시료에 scintillation cocktail (Lumagel, Lumac, Netherlands)을 10 ml 씩 첨가한 후 방사능은 liquid scintillation counter (Packard Co; TRI-CARB 4530)를 이용하여 disintegration per minute (dpm)으로 측정하였다.

7. Relative Strand Scission Factor (SSF) 산출

각 세포의 DNA ssb에 의한 방사선 감수성을 파악하기 위한 Alati 등¹⁷⁾의 방법에 따른 SSF 산출법은 우선 elution rate constant (K)의 값을 필요로 한다. 즉 방사선 비조사 대조군의 DNA가 초기의 elution rate로 계속 유지되며 용해된다고 가정할 때, 다음과 같은 공식이 성립된다.

$$\ln F = \ln F_0 - KV$$

여기에서 F_0 는 방사선 비조사 대조군에 대하여 이미 선정된 elution volume(V)으로 부터 각 시료의 전 방사능에 대한 filter에 잔존된 방사능의 백분율(%)로 표시된 값이고, 또한 F는 방사선 조사 실험군에 대하여 elution volume이 대조군과 동일할때, 각 시료의 전 방사능에 대한 filter에 잔존된 방사능의 백분율(%)로 표시된 값이며, elution rate constant (K)는 각 시료의 elution data, 즉 elution volume (ml)에 따라 각 시료의 전 방사능(전체의 DNA)에 대한 filter에 잔존된 DNA (³H-thymidine counting number)의 백분율(%)의 값을 자연대수(ln)치로 환산하고 반대수지에 옮긴 다음 linear regression analysis로 얻어진 직선의 기울기이다.

SSF는 각 방사선조사 실험군의 filter에 잔존된 DNA(%)를 방사선 비조사 대조군의 filter에 잔존된

DNA(%)로 나누고, log₁₀으로 계산한 절대치로서, SSF의 평균치를 그래프상에서 방사선량의 함수로 표시하면 선량-반응관계는 선형적으로 성립되므로 실험에 제공된 한국인삼의 종류에 따른 방사선 감수성이 파악된다.

이때 그래프상의 선량-SSF 관계의 각 직선은 선량이 "0"이면 SSF는 "0"이 됨으로 각 직선은 모두 원점에서 교차되며, 모든 방사선 방어제에 대한 직선의 기울기는 방사선에 의한 DNA dsb의 유발효과를 의미하는 방사선 감수성이 된다.

본 실험은 filter elution법에 의한 DNA ssb의 분석 효과를 얻기위하여 Alati 등¹⁷⁾이 사용하였던 산출법을

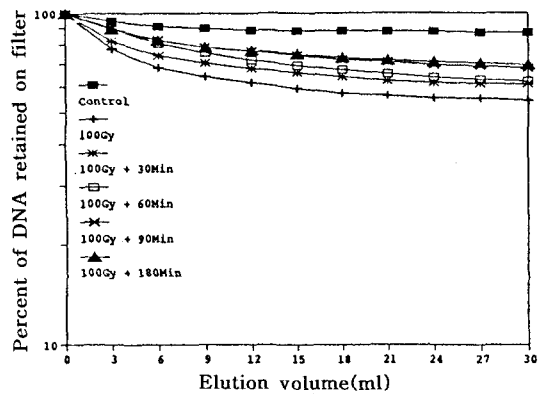


Fig. 3. Neutral elution profiles depicting the elution kinetics of DNA from murine lymphocytes exposed to 100 Gy and then allowed to repair for various periods following irradiation.

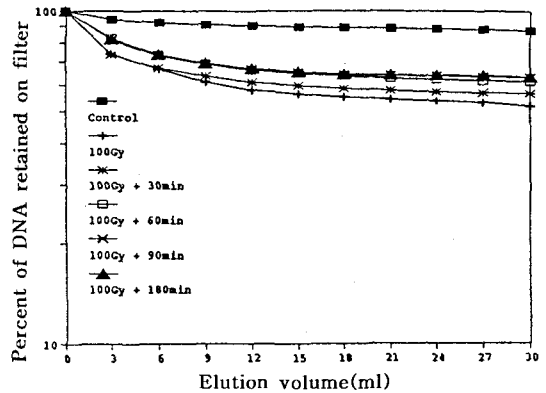


Fig. 4. Neutral elution profiles depicting the elution kinetics of DNA from murine lymphocytes exposed to 100 Gy and then allowed to repair in the presence of 500 µg/ml Korean ginseng for various periods of time following irradiation.

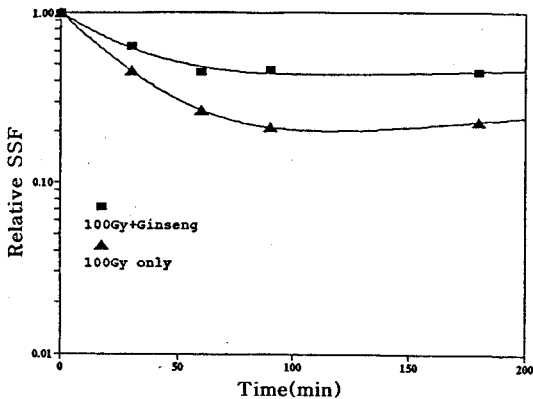


Fig. 5. Relative rate of DSB rejoining in presence or absence of Korean ginseng 500 μ g/ml following 100 Gy. A relative SSF of 1 presents 100% of double strand breaks remaining following irradiation.

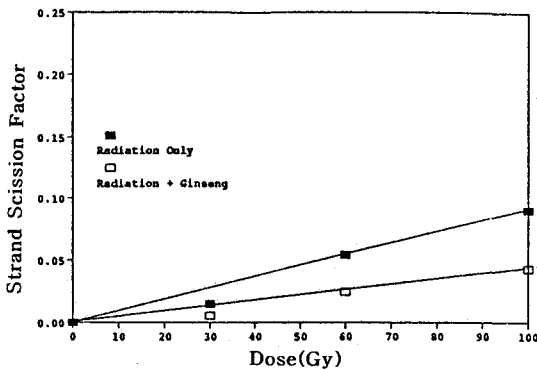


Fig. 6. Strand scission factor versus radiation dose of murine lymphocytes following γ -ray irradiation in DNA DSB assay.

활용하였으며, 각 실험군의 elution volume 은 21 ml 를 기준으로 선택하여 그 효과를 비교 평가하였다.

결 과

1. DNA Double Strand Breaks 생성에 미치는 영향 (Fig. 6)

Fig. 6 에서 보는 바와 같이, 방사선만 조사한 군에서의 SSF의 기울기는 $(3.85 \pm 0.58) \times 10^{-3}$, 알칼로이드 분획을 투여한 군에서의 기울기는 $(1.79 \pm 0.32) \times 10^{-3}$ 이었다. 이 기울기의 차이는 dsb 생성 정도의 차이를 의미하는데, 인삼 추출물인 알칼로이드 분획의

투여로 약 2.15배의 dsb 생성이 억제하였다.

2. Double Strand Breaks 의 회복에 미치는 영향

방사선만 조사한 대조군에서는 손상된 DNA 의 회복이 조사된 세포의 배양시간의 경과에 따라 증가하는 경향을 보였으나, 배양시간 180 분에서도 회복되지 않은 세포가 약 30% 였으며, 손상된 DNA의 회복은 two component로서 fast component의 반감기는 20.4분, slow component는 방사선 조사 후 220.2 분이었다(Fig. 3). 인삼의 알칼로이드 분획을 투여한 군에서는 방사선 조사 대조군과 유사한 경향으로 회복이 관찰되었으나, DNA 회복에 대한 fast component의 반감기는 21.1분 이었고, slow component의 반감기는 621.8 분이었다. 따라서, 알칼로이드 분획의 투여로 fast component의 회복에는 아무런 영향을 끼치지 않았으나, slow component의 회복은 약 2.8 배정도 회복 지연이 관찰되었다 (Fig. 4, 5).

이상과 같은 결과를 종합해 볼 때, 알칼로이드 분획은 DNA의 double strand breaks의 생성을 감소시켜, 세포의 손상을 억제시켰으며, slow component의 회복시간을 지연 시켜, 방사선의 만성효과인 mutagenic effect 를 억제시킬 수 있을 것으로 생각된다.

고 찰

DNA는 방사선의 주된 target 로 알려져 있으며, 전리 방사선에 의한 세포사의 주 요인이 DNA 손상으로 간주되고 있으며¹⁸⁻²⁴⁾, 각종 DNA 손상의 측정방법에는 alkaline sucrose sedimentation, nucleotic sedimentation, viscoelastrometry, single cell microelectrophoresis^{27, 28)}, DNA precipitation, pulse field gel electrophoresis, fluctuation spectroscopy²⁹⁾ 및 nick translations³⁰⁾ 등이 있다. 그러나, 이들은 측정방법에 따른 차이 뿐 만 아니라 재현성에 문제가 있으므로 본 연구에서는 가장 많이 사용되고 있는 neutron filter elution 법을 이용하여^{25, 26)} DNA strand breaks 의 수를 측정하여 한국 인삼 추출물인 알칼로이드 분획의 방사선 방어 효과를 관찰하였다.

방사선에 의한 세포사는 DNA의 염기 배열의 변화, 미회복 strand breaks, inactive site로의 유전자 이동 혹은 유전자를 포함한 염기 배열의 손실 등에 의해 효과적인 유전자 기능이 손실되어 일어난다고 하였으며³¹⁾, DNA의 방사선에 의한 직접적인 손상기전 (direct

mechanism)은 ssb, dsb, 염기 손상, sugar 손상, DNA-DNA cross/links 그리고 DNA-protein cross-links와 같은 다양한 변화를 일으키며³²⁾, 간접적인 손상 기전은 자유 라디칼이 방사선 생물학적 효과를 수정하는 것으로 알려져 있다²⁴⁾.

방사선에 의한 장애를 효과적으로 방어할 수 있는 방어제 개발에 대한 연구는 1940년에 Dale이 처음으로 시험관내에서 thiourea, sodiumates 및 colloid 상의 이온화합물을 이용하여 방사선에 대한 영향을 관찰한 이래, cysteamine³³⁾, glutathion, 5-hydroxytryptamine 및 WR-2721 series 등을 이용한 방사선 장애 억제 효과를 관찰 보고한 바 있다^{19, 34)}. 이와같이 화학적 방사선 방어제의 개발 연구가 확산되어 예방 및 치료를 위한 많은 연구가 수행되어 왔으나 인체에 적용 가능한 방사선 방어제가 아직 개발되지 못하여 본 연구에서는 다양한 약리작용이 있는 것으로 보고되고 있는 한국인삼의 알칼로이드 분획을 추출하여 방사선 장애에 대한 방어효과를 관찰하였다. 한국 인삼이 방사선에 의한 생물학적 변화에 미치는 영향에 대하여 지금까지 특별히 밝혀져 있는 기전이 없기 때문에 본 연구를 통하여 방사선에 의해 손상된 DNA의 회복에 미치는 영향을 strand scission factor (SSF) 및 relative strand scission factor (RSSF)로 방사선 방어효과를 정량적으로 관찰하였으며, 아직 그 기전은 정확히 규명할 수 없으나 아마도 방사선 장애에 대한 예방 효과를 나타내는 것으로 생각되었다.

방사선 조사 대조군에서는 손상된 DNA의 회복 (repair)이 조사된 세포의 배양시간의 경과에 따라 증가하는 경향으로 나타났으나 배양시간 180분에도 회복되지 않은 손상된 세포가 약 30% 이었으며, 손상된 DNA의 회복은 two component로서 fast component의 반감기는 20.4분에, slow component는 방사선 조사 후 220.2분에 각각 완성되었다(Fig. 3). 한국인삼의 알칼로이드 분획을 투여한 군에서는 방사선 조사 대조군과 유사한 경향으로 관찰되었으나 DNA회복에 대한 fast component의 반감기는 21.1분이고, slow component는 621.8분으로 나타났다(Fig. 4, 5). 이와 같은 실험결과를 종합해 볼 때 인삼의 방사선에 대한 효과는 WR-1065가 DNA dsb 형성을 감소시켜 DNA 손상을 경감시키는 작용 기전⁵⁾과 일치하며, 또한 2-[(aminopropyl)amino] ethionethiol에 의한 antimutagenesis(항돌연변이)와 유사한 작용기전³⁵⁾을 나타낼 수 있을 것으로 판단되었다. 향후 인삼 추출물의 방어 효과의 기전을 규명하기 위하여 방사선에 의해 돌연변이가 잘 일어난다고 알려져 있는 hypoxanthine-

guanine-phosphoribosyltransferase (HGPRT) locus³¹⁾의 돌연변이 발생빈도를 측정하고자 하며, 이상적인 방사선 장애 방어제가 아직까지 개발되어 있지 않은 상황에서 한국 인삼의 방사선 장애에 대한 예방효과가 본 시험관내 실험에서 관찰되었기 때문에, 향후 잘 계획된 임상적용을 통하여 실제 인체내에서 방어 효과의 확인 및 효과 정도, 방어 효과를 나타내는데 필요한 투여량의 정립 등에 대한 연구가 절실히 요구된다.

REFERENCES

1. Norwood WD. Health protection of radiation workers. 1st ed. Springfield, 1972; 216-246
2. IAEA safety series No. 47. Manual on early medical treatment of possible radiation injury. IAEA. Vienna, 1978; 74-75
3. NCRP report No. 65. Management of persons accidentally contaminated with radionuclides, 1980; 77-131
4. 중미통. 방사선사고의 긴급의료. 일본원자력학회지 1983; 25(7):38-39
5. Murray D, vanAnkeren SC, Milas L, et al. Radioprotective action of WR-1065 on radiation-induced DNA strand breaks in cultured Chinese hamster ovary cells. Radiat Res 1988; 113:155-170
6. 오장석. Reduced glutathione 및 인삼추출액이 X선 전신조사된 마우스 간조직 및 혈중 NP-SH 및 NP-SS에 미치는 영향. 대한 생리학회지 1972; 6(2):57-59
7. Takeda A. Substances stimulating recovery for radiation injury. Radioisotope 1978; 27(11):43-47
8. Takeda A, Katoh N, Yonezawa M. Restoration of radiation injury by Ginseng (III); Radioprotective effect of thermostable fraction of ginseng extract on mice, rats, and guinea pigs. J Radiat Res 1982; 23:150-156
9. Takeda A, Yonezawa M, Katoh N. Restoration of radiation injury by Ginseng (I); Responses of X-irradiated mice to ginseng extract. J Radiat Res 1981; 323-326
10. Yonezawa M, Takeda A, Katoh N. Restoration of radiation injury with Ginseng extract. Proc Symp Wakan Yaku 1979; 12:44-47
11. Hisayama T. Clinical experience in the treatment of advanced cancer with ginsenosides (Saponin of ginseng root), Kendai Shinliou 1979;

2(7):117-119

12. **Ben-Hur, Fulder S.** Effect of Panax ginseng saponins and Eleutherococcus senticosus on survival of cultured mammalian cells after ionizing radiation, *American J Chinese Med* 1981; 9(1): 48-50
13. **Hahn DR.** Pharmacological action of ginsenoside Rb1, Re and Rg1, *Proc. 2nd Int. Ginseng Symp* 1978; 135-136
14. **Zhang JS, Sigdestad CP, Grdina DJ.** Modification of radiation responses in mice by fractionated extracts of Panax ginseng, *Radiat Res* 1987; 112:156-163
15. **Kohn KW, Erickson LC, Ewig RAG, et al.** Fractionation of DNA from mammalian cells by alkaline elution. *Biochem.* 1976; 15:4629-4637
16. **Koval TM, Kazmar ER.** Eluting solution composition effects DNA double-strand break analysis by filter elution. *Int J Radiat Biol* 1988; 54: 739-747
17. **Alati T, van Cleeff M, Strom SC, et al.** Radiation sensitivity of adult human parenchymal hepatocytes. *Radiat Res* 1988; 115:152-160
18. **Leenhouts HP, Chadwick KH.** The crucial role of DNA double-strand breaks in cellular radiobiological effects. *Adv Radiat Res* 1978; 7: 55-101
19. **Hanson WR, Grdina DJ.** Radiation-induced DNA single strand breaks in the intestinal mucosal cells of mice treated with the radioprotectors WR-2721 or 16-16 dimethyl prostaglandin E2. *Int J Radiat Biol* 1987; 52:67-76
20. **Blocher D.** DNA double-strand break repair determines the RBE of α -particles. *Int J Radiat Biol* 1988; 54:761-771
21. **Meyn RE, Jenkins WT.** Variation in normal and tumor tissue sensitivity of mice to ionizing radiation-induced DNA strand breaks in vivo. *Cancer Res* 1983; 43:5668-5673
22. **Ostachevsky IY.** A model relating cell survival to DNA fragment loss and unrepaired double-strand breaks. *Radiat Res* 1989; 118:437-446
23. **Tobias CA.** The repair-misrepair model in radiobiology. Comparison to other models. *Radiat Res* 1985; 104:s77-s95
24. **Sonntag CV, Hagen U, Schon-bopp A, et al.** Radiation-induced strand breaks in DNA: chemical and enzymatic analysis of end groups and mechanistic aspects. *Adv Radiat Res* 1981; 9:109-142
25. **Ahnstrom G.** Techniques to measure DNA single-strand breaks in cells: A review. *Int J Radiat Biol* 1988; 54:695-707
26. **Bradley MO, Kohn KW.** X-ray induced DNA double-strand break production and repair in mammalian cells as measured by neutral filter elution. *Nucleic Acids Res* 1979; 7:793-804
27. **Ostling O, Johanson KJ.** Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984; 123:291-298
28. **Carle GF, Frank M, Olson MV.** Electrophoretic separation of large DNA molecules by periodic inversion of the electric field. *Science* 1986; 232:65-68
29. **Weissman M, Schnider H, Feher G.** Determination of molecular weights by fluctuation spectroscopy: application to DNA, *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73:2776-2780
30. **Snyder RD, Matheson DW.** Nick translation—a new assay for monitoring DNA damage and repair in cultured human fibroblasts, *Environ. Mutagen* 1985; 7:267-279
31. **Wun KLW.** Structural changes in mammalian cell DNA induced by low-dose x-ray damage, *Radi Res* 1982; 90:310-320
32. **Rydberg B.** Detection of induced DNA strand breaks with improved sensitivity in human cells. *Radi Res* 1980; 81:492-495
33. **Patt H, Tyree E, Straube R, et al.** Cysteine protection against x-irradiation. *Science* 1949; 110:213-214
34. **Bacq ZM, Herve M, Lecompte A, et al.** Protection contre le rayonnement x par 1a β -mercaptoethylamine. *Arch Int Physiol* 1951; 59: 442-447
35. **Strauss BS.** Molecular biology of the response of cells to radiation and to radiomimetic chemicals. *Cancer* 1979; 40:471-480