

전혈, 림프구와 백혈구 연층 각각의 방사성 동위원소 체외 조사 후 배양을 이용한 생물학적 선량측정

서울대학교 병원 핵의학과

김종호 · 이동수 · 최창운 · 정준기 · 이명철 · 고창순

한일병원 내과

김 종 순

한국 전력 공사 기술연구원

김희근 · 강덕원 · 송명재

= Abstract =

Biological Dosimetry of In Vitro Irradiation with Radionuclides: Comparison of Whole Blood, Lymphocyte and Buffy Coat Culture

Jong Ho Kim, M. D., Dong Soo Lee, M. D., Chang Woon Choi, M. D., June-Key Chung, M. D.
Myung Chul Lee, M. D. and Chang Soon Koh, M. D.

Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

Chong Soon Kim, M. D.

Department of Internal Medicine, Han Il Hospital, Seoul, Korea

Hee Geun Kim, Ph. D., Duck Won Kang, Ph. D. and Myung Jae Song, Ph. D.

Korean Electric Power Corporation Research-Development Center

The purpose of this study was to establish mononuclear cell cultures such as lymphocytes or buffy coat for the biological dosimetry of in vitro irradiation of the radionuclide Tc-99m in order to exclude the effect of residual doses seen in the cultures of whole blood. Biological dosimetry of Tc-99m on cultured mononuclear cells at doses ranging from 0.05 to 6.00 Gy, by scoring unstable chromosomal aberrations(Ydr) observed in cultured lymphocytes, were performed using peripheral venous blood of healthy normal person. The results showed that; (1) In vitro irradiation of radioisotope in separated lymphocyte or buffy coat showed trace amount of residual doses of isotope after washing. Residual doses of isotopes are increased in proportion to exposed time and irradiated dose without difference between I-131 and Tc-99m. (2) We obtained these linear-quadratic dose response equations in lymphocyte and buffy coat culture after in vitro irradiation of Tc-99m, respectively ($Y_{dr} = 0.001949 D^2 + 0.006279D + 0.000185$; $Y_{dr} = 0.002531 D^2 - 0.003274 D + 0.003488$). In conclusion, the linear quadratic dose-response equation from in vitro irradiation of Tc-99m with lymphocyte and buffy coat culture was thought to be useful for assessing Tc-99m induced biological effects. And mononuclear cell cultures seem to be the most appropriate experimental model for the assessment

of biological dosimetry of internal irradiation of radionuclides.

Key Words: In vitro irradiation, Tc-99m, Mononuclear cell culture, Chromosomal aberrations, Biological dosimetry

서 론

방사선 피폭은 피폭 경로에 따라 내부피폭과 외부피폭으로 구분 할 수 있으며, 피폭자의 피폭정도 및 피폭의 영향을 예측하는데에는 피폭량 외에도 시간적 공간적인 조사 특성과 인체의 세포 반응이 영향을 미친다¹⁾. 방사선이 인체에 조사되었을때 세포의 기능 및 염색체가 변화하고²⁻³⁾ DNA의 이상이 유발되는데⁴⁻⁸⁾ 이 변화가 우리나라 사람에서 어느 정도의 방사선량에 의해 유발되는가를 확립하여야 한다. 이때 치료나 진단 목적으로 인체내에 투여하는 방사성 동위원소나 작업장에서의 소량의 방사선도 인체에 객관적 증상 없이 누적되어 생식계, 조혈계의 이상을 일으키고 발암의 원인이 되며 후세에게 유전적 이상을 일으킬 수 있어 소량피폭이지만 그 선량측정도 다량 피폭 때와 같이 중요하다⁹⁾.

서등¹⁰⁾은 방사성옥소 치료중인 갑상선 암 환자를 대상으로 혈액학적 지표를 조사하여 림프구 최저 감소율은 내부 피폭의 생물학적 선량측정지표로 사용할 수 있다 하였다. 하지만 전리 방사선은 림프구 수를 감소시키기 전에도 불안정 염색체 이상(dicentric fragment, acentric fragment, centric ring)과 안정 염색체 이상(reciprocal translocation)등을 초래한다. 따라서 림프구 수 보다는 이 염색체 이상을 계수하는 것이 방사능 사고시의 피폭선량을 계산하는 생물학적 선량측정법의 표준으로 생각되고 있다. 그러나 염색체 계수 방법이 쉽지 않으므로 물리적 선량이 높으면 대체로 생물학적 손상이 클 것이라는 가정하에 물리적선량 측정으로 생물학적 손상을 추정하려는 시도도 있다.

김등¹¹⁾은 방사성옥소를 투여한 갑상선 암 환자 13명에서 BEL dosimetry protocol로 물리적 선량을 측정하고 체내 조사된 전혈 배양 후 염색체 이상으로 생물학적 선량을 측정하여 보았으나 이 둘 사이에 상관관계를 찾지 못하였다. 이들은 이런 현상의 원인으로 혈액과 소변의 방사능 측정값으로부터 추정된 간접적 물리적 선량측정이 정확하지 않았을 가능성과 실제 피

조사자의 골수 및 혈액에 조사된 조사선량과 염색체 이상으로 평가된 생물학적 선량의 차이를 들었다. 뿐만 아니라 김등¹²⁾은 이어 이 연구¹¹⁾에서처럼 체내 방사선 조사로 생물학적 선량을 측정하는 것은 방법이 어렵고 되풀이 할 수 없으므로 대신 시험관내에서 전혈에 방사선 동위원소를 조사하고 배양하여 염색체 이상을 평가하는 체외조사 생물학적 선량측정을 시도하였다¹²⁾. 체외조사 생물학적 선량측정법은 한번 확립하면 재현성이 있고 표준화가 가능한 선량측정법이다 그러나 이러한 체외조사 생물학적 선량측정 방법도 방사선 동위원소가 조사된 전혈의 잔류 방사능의 영향으로 체내 피폭의 실제 영향을 정확히 반영 할 수 없다. 이에 저자들은 김등¹²⁾의 I-131 전혈 체외 조사 결과를 바탕으로 I-131과 Tc-99m을 각각 전혈에 체외 조사 한후 배양액으로 세척하여 잔류 방사능의 양을 비교하고 I-131 대신 Tc-99m을 사용하여, 잔류방사능의 영향을 배제 할 수 있다고 알려진 방법을 도입하여 림프구 또는 백혈구 연층을 분리하고 방사성 동위원소로 체외 조사한 후 배양하여 염색체 이상을 평가하는 것이 가능한지와 생물학적 선량 측정 방법으로 적절한지 알아 보았다.

대상 및 방법

1. 대 상

염색체 이상을 동반하는 유전병이 없으면서 최근 3년간 0.01 Gy(1Rad) 이상의 방사선 조사를 받은 적이 없는 건강한 젊은 성인의 말초혈액을 채취하였다. 채취된 전혈은 응고를 방지하기 위해 헤파린 처리하였고 검사전까지 37°C의 수조안에 보관하였다.

2. 방 법

1) 단핵구 분리

(1) 백혈구 연층(Buffy coat) 분리; Ficoll-Hypaque 방법.

백혈구 연층 분리를 위해 방부제가 포함되지 않은 헤파린으로 말초혈액을 채취하여 혈액과 배지를 동량

으로 희석하고 Ficoll-Hypaque(Becton Dickinson Labware) 1: 희석 혈액 2의 비율로 섞어 1800rpm에서 30분간 원심분리 하였다. 분리된 세포층을 배지로 희석하여 1400rpm에서 10분간 원심분리 하고 2-3번 세척하여 Ficoll-Hypaque을 제거하였다.

(2) 림프구 분리; LeucoPREP 방법

헤파린 처리한 혈액 3ml를 실온 보관한 LeucoPREP(Becton Dickinson Labware)에 넣고 20°C 3000 rpm에서 15분간 원심분리 후 상층의 혈장을 스포이드로 제거하였다. 15ml짜리 원추형 원심분리 시험관에 RPMI 배지 15ml와 우태아혈청 0.33ml를 넣고 LeucoPREP의 세포층을 얻어 원추형 원심분리 시험관에 넣은 후 잘 섞고나서 5°C 1400 rpm에서 15분간 원심분리 하였다.

(3) 단핵구 수 계측 및 생존능 검사

Hemocytometer를 이용하여 림프구 수를 계측하였다. 계수할 세포를 배양 배지에 부유 시키고 Finn 피펫과 무균 피펫 끝을 이용하여 세포 부유액 30 μ L를 12 \times 75mm 시험관이나 96-microwell plate의 첫번째 microwell에 담고 3% 아세트산 30 μ L를 1분 이상 첨가하였다. 이때 첨가한 아세트산은 적혈구를 용해하였으며 10분 이하로 시간을 제한하여 백혈구에 있을 수 있는 손상을 막았다. 0.2% trypan blue 30 μ L를 12 \times 75mm 시험관 또는 96-well plate의 두번째, 세번째, 네번째 microwell에 넣고 첫번째 microwell에 있는 세포 부유액에서 30 μ L를 취하여 두번째 microwell에서 trypan blue와 섞었다. 같은 조작으로 네번 희석하고 Hemocytometer chamber에 위에서 준비된 세포 부유액 하나를 넘치지 않도록 충분히 담은 후 림프구 수를 계산하였다.

원래의 전혈중 단핵구수에 대한 분리 단핵구수의 %로 표시한 단핵구 회수율은 LeucoPREP 방법으로 70%, Ficoll-Hypaque 방법으로 60% 이었다.

림프구 생존능(Viability)은 Trypan blue 염색에서 단핵구 크기와 염색된 투명도 등으로 판정하였으며 생존능을 단핵구중의 생존 단핵구의 %로 표시 하였을 때 LeucoPREP 방법으로 85%, Ficoll-Hypaque 방법으로 60% 이었다.

2) 체외 방사성 동위원소 조사

전혈에 대한 방사성 동위원소 조사는 김등¹²⁾의 보고에서와 같이 하였으며 조사시간과 방사선량을 변화시

켜 조사선량을 정하였다.

37°C의 수조안에 보관된 전혈을 2ml씩 14개의 튜브에 분주하고 각각 시간과 용량을 달리하여 I-131과 혼합하였다. 이때 피폭선량은 MIR(D Medical Internal Radiation Dose Committee)에서 제안한 공식에 따라 계산하였다.

Medical Internal Radiation Dose

D; absorbed dose (rad)/hour

m; tissue mass (g)

$$D = \frac{A}{m} \sum \Delta i$$

A; amount of activity (μ Ci)

$\sum \Delta i$; equilibrium dose constant

(g · rad/ μ Ci · hour)

0.05, 0.10, 0.15 0.20, 0.30, 0.50Gy의 저선량과 0.75, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00Gy의 고선량이 되도록 I-131의 조사 선량률과 시간을 조정하였다. Tc-99m도 위와 같은 선량 범위에서 조사 시간과 조사선량을 달리 하였다.

방사선조사가 끝난 전혈 또는 분리된 단핵구 부유액은 5°C에서 1500rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액은 버렸고 남은 침전물에 RPMI 배지 용액 10ml를 첨가하고 같은 방법으로 원심분리하는 과정을 다섯차례 반복하여 세척하였으며, Tc-99m의 경우는 같은 방법으로 2차례만 세척하였다.

3) 세척후 잔류 방사능 계측

Dose Calibrator(Model CRC-12(CAPINTEC))를 이용하여 I-131을 조사한 전혈과 Tc-99m을 조사한 전혈, 백혈구 연층과 림프구 분리층에 동위원소 조사와 세척후 세포 배양전에 잔류 방사능을 계측하였다. 잔류방사능을 계측하기 위한 조작이 세포 배양 수확물을 감소시키는 것을 배제하기 위하여 반복된 여러 실험중에서 시험적인 표본쌍(pilot paired sample)에서 만 단시간에 계측하였다.

4) 전혈, 림프구와 백혈구 연층 배양 및 수확

방사선 조사후 전혈 배양을 위하여 멸균된 15ml 용량의 시험관에 전혈, 림프구 분리액 또는 백혈구 연층 0.5ml를 넣고 RPMI 배지 10ml, 15% 우태아혈청 1ml, 세포분열 촉진제로서 3% phytohemagglutinin 0.2ml를 넣어 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 45 시간 배양후 방추사형성 억제 물질로서 colcemid 0.03ml를 첨가하여 2시간 더 배양하였다. 배양이 끝난 시험관은 1000rpm으로 10분간 원심분리한 다음 상층액은 버리

Table 1. Residual Radiation Doses After Repeated Washing in in Vitro Irradiation of Radionuclides

absorbed dose (Gy)	Residual doses(uCi)			
	Whole blood**	Tc-99m Lymphocyte*	Buffy coat*	I-131 whole blood**
0.00	0	0	0	0
0.05		2	0	0.1
0.05		2	0	
0.10			0	0.2
0.10			0	
0.15			10	0.2
0.15			10	
0.20	20	2	5	0.3
0.20	20	2	2	
0.30		4	5	
0.30		4	5	
0.50			10	1
0.50			10	
0.75			7	
0.75			8	
1.00		4	6	2
1.00		4	15	2
2.00	38	6	15	16
2.00	38	6		30
4.00	57		60	120
4.00	57		49	260
6.00	231	20	45	400
6.00	231	20	47	400
15.00	400			

*Washing twice in lymphocyte or buffy coat
 **washing five times in whole blood,

고 저장액(0.075M-kcl)을 6-7ml씩 각각 분주하고 잘 섞은 후 다시 37°C 수조에서 10분간 방치하여 1000rpm으로 8분간 원심분리하고 상층액은 버린 뒤 고정하였다. 이때 고정액으로는 무수 메탄올과 아세트산을 3대 1의 비율로 혼합한 용액으로, 한차례 고정이 끝나면 원심분리하여 상층액을 버리는 과정을 다섯 차례 반복한 후 고정액 10ml를 넣어 냉장고에서 하룻 동안 고정한 다음 10000 rpm으로 8분간 원심분리하여 여분의 상층액은 버리고 침전된 세포 pellet을 남아 있는 상층액과 잘 섞은 다음 슬라이드위 30cm 높이에서 한두 방울 떨어뜨려 고루 퍼지도록 하고 공기중에서 건조시킨 뒤 Giemsa 용액으로 염색하였다.

5) 현미경 검검 및 염색체 이상 계수

염색된 표본은 현미경하에서 100배의 배율로 관찰

Table 2. Incidence of Unstable Chromosomal Aberration by in Vitro Irradiation of Tc-99m Between Lymphocyte and Buffy Coat Culture

Absorbed dose(Gy)	cells scored	Ydr (Lymphocyte culture)	Ydr (Buffy coat culture)
0.00	200	0.000	0.000
0.05	200	0.000	0.000
0.10	300	0.000	0.000
0.15	200	0.000	0.000
0.20	200	0.002	0.002
0.30	200	0.002	0.002
0.50	450	0.003	0.003
0.75	400	0.003	0.003
1.00	400	0.004	0.007
2.00	200	0.030	0.010
4.00	200	0.050	0.025
6.00	200	0.110	0.077

하여 핵분열 중기의 세포를 찾아 1000배로 확대 관찰하였다. 이때 세포당 염색체 수가 46개 전후인지 확인하고 그 숫자가 부족하거나 염색체 밀도가 염색체 이상의 빈도를 판정하기에 부적합한 것은 관찰에서 제외시켰다. 염색체이상은 dicentric 염색체, ring 염색체, acentric fragment 쌍 중에 한가지 이상의 빈도를 보이는 경우를 계측하였고, 하나의 염색체중에 3개 이상의 중심체가 보일 때는 그 중심체 수효에서 1을 뺀 횟수만큼을 dicentric 염색체로 간주하였으며, 각각 관찰된 염색체이상(dicentric, ring)의 빈도(Ydr)와 흡수선량(D)과의 관계식, $Ydr = \alpha D^2 + \beta D + C$ 을 가정하여 α 및 β 값은 비선형회귀분석(non-linear regression)에 의해 구했다.

$$Ydr = \frac{\text{dicentric과 ring 염색체의 수}}{\text{관찰된 총 림프구의 수}}$$

결 과

1. 잔류 방사능 측정 (Table 1)

전혈을 방사성 동위원소로 조사한 후 배양전에 배지 용액으로 되풀이 세척한 후 측정된 잔류 방사능은 Table 1과 같았으며 잔류량은 조사된 방사성 동위원소 용량과 조사 시간에 비례하였고 Tc-99m과 I-131 사이에 차이가 없었다.

백혈구 연층과 림프구 각각에 Tc-99m을 체외 조사

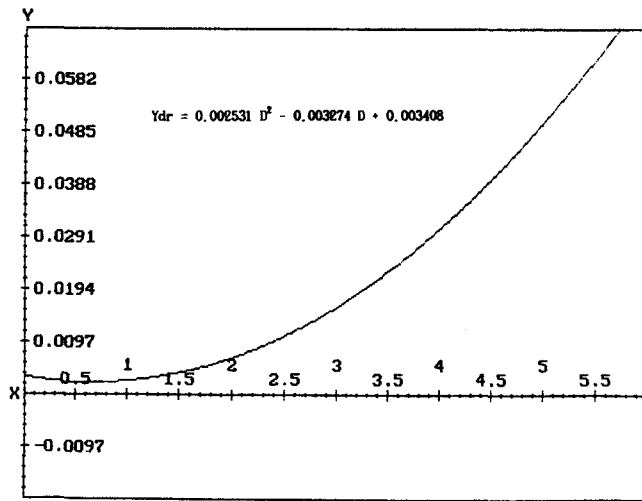


Fig. 1. Relationship of in vitro irradiation of Tc-99m and chromosomal aberration(Ydr) in buffy coat culture.

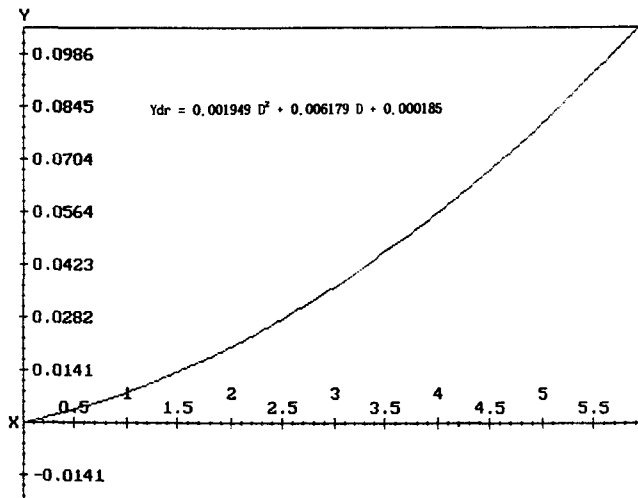


Fig. 2. Relationship of in vitro irradiation of Tc-99m and chromosomal aberration(Ydr) in lymphocyte culture.

하여 2회 세척한후 방사능 잔류량은 거의 관찰되지 않았다.

2. 생물학적 선량-반응 곡선

분리된 백혈구 연층과 림프구 각각에 Tc-99m을 체외 조사후 배양하여 핵분열 중기 림프구에서 관찰한 불안정 염색체 이상(dicentric fragments, centric rings)(Ydr)의 빈도는 조사선량의 증가에 따라 이차함수식으로 증가하는 표준선량 반응곡선을 얻었다. 각각 linear-quadratic model을 적용하였을때,

$$Y_{dr} = 0.001949D^2 + 0.006279D + 0.000185, Y_{dr} = 0.002531D^2 - 0.003274D + 0.003488$$

이었다(Table 2, Fig. 1, 2).

고 찰

피폭자를 진단하고 치료하기 위해서는 정확한 유효 피폭선량을 아는것이 중요하며 피폭 후 인체에 나타나는 방사선의 영향을 계속하여 역으로 피폭선량을 추정할 수 있도록 고안된 생물학적 선량 측정 체계가 필요

Table 3. Radiation Doses and Chromosomal Aberration with Whole Blood Culture After in Vitro Irradiation of I-131

Absorbed dose (Gy)	I-131 dose (uCi)	Exposed time (min)	Cells scored	Dicentric a/o ring (%)	Ydr
0.00	0	0	2000	0.0	0.000
0.05	100	5	1308	0.4	0.003
0.10	200	5	500	0.4	0.004
0.15	200	7	280	0.4	0.004
0.20	200	10	700	0.5	0.005
0.30	200	15	1000	0.5	0.005
0.50	1000	5	1000	0.8	0.008
0.75	1000	7	65	4.6	0.046
1.00	2000	5	106	4.7	0.057
2.00	2000	10	42	14.0	0.143
3.00	2000	15	86	29.0	0.302
4.00	2600	15	126	36.0	0.389
5.00	1000	5	19	63.0	0.842
6.00	20000	3	25	68.0	1.720

*Kim ES, Kim MS, et al.: Chromosomal aberrations by in vitro irradiation of I-131. Korean J Nucl Med 28(1): 133-140, 1994

하다. 방사성 동위원소 체내조사 후 혈액내 림프구에 존재하는 염색체 이상의 빈도로 부터 방사선피폭량을 추정할때는 림프구 동역학을 포함한 생물학적 요소 및 방사선량 분포등 물리학적 요소의 영향을 함께 고려하여야 한다. 체내조사 생물학적 선량 측정시에는 염색체 분석이 쉽지 않고 시간이 많이 걸리므로 대개 일회 채혈 검사법을 쓰는데 림프구의 반감기가 90% 는 3년이고 10% 는 하루내지 10일임을 고려할때 혈액채취 시기에 따라 피폭된 세포가 일부 소멸되어 수치가 달라지게 된다. 따라서 체내조사를 대신할 수 있고 반복 검사시 재현성이 있는 체외 조사 생물학적 선량 측정법의 중요성이 강조되고 있다. 체외조사 생물학적 선량측정 방법은 전혈을 이용하여 체외조사 후 조사선량에 따라 초래되는 염색체 이상의 빈도를 측정하고 조사선량과 염색체 이상 빈도의 상관 관계를 구한다. 이때 염색체 이상의 빈도로 부터 방사선 피폭량을 정확히 추정하기 위하여는 방사선량별로 염색체 이상의 빈도를 구하고 방사선량-염색체 이상 빈도의 선량-반응 관계식으로 표준곡선을 작성하는 일이 선행되어야 한다. 이는 선량-반응 곡선의 특징이 선량에 대해 단순 비례하는 선형 관계가 아니라고 보고 되었기 때문이다⁹⁾. 저자들은 이미 보고한 김 등¹²⁾의 논문에서 I-

131체의 조사후 배양한 전혈의 염색체 이상을 평가하여 선량반응 곡선을 얻었다(Table 3). 생물학적 선량 측정방법에 dicentric 염색체와 ring 염색체를 합한 빈도를 가장 많이 이용하는데, 이는 이 둘의 생성 기전이 본질적으로 동일하여 의의가 같은 것으로 간주되고 그 모양이 특징적이어서 쉽게 계수 할 수 있기 때문이다. 따라서 현미경으로 검경하여 계측하는데 있어 관찰자간의 편차가 적다. 염색체이상을 계수할때는 dicentric 염색체와 ring 염색체 둘을 합한 빈도가 선량-반응 관계를 가장 잘 대표한다고 알려져 있다. 1982년 IAEA는 각 검사실이 염색체 이상을 계수할 때 항상 동일한 검사방법으로 첫 유사분열 세포만을 이용하여 판정하여야 하며 첫 유사세포분열이 최대일 때 고정하고 필요시 평형세포배양(parallel culture)으로 계대배양을 할 수 있는 상태에서 각 검사실 자신의 선량-반응 곡선(dose-response curve)을 작성하여야 한다고 권고하였다¹³⁻¹⁸⁾.

따라서 이 권고에 따라 얻은 I-131체외조사 선량반응곡선이 표준화된 재현가능한 생물학적 선량 측정법이다.

체의 방사선 조사에 의한 염색체 이상의 연구에서 이¹⁹⁾ 와 안등²⁰⁾이 저선량과 고선량에서의 외부피폭에 대한 표준 선량-반응 곡선을 제시하였다. 이와같이 외부 피폭환자에서 전혈을 이용하여 염색체 이상을 평가할때는 잔류 방사능이 문제되지 않는다. 그러나 실제 임상례에서 만나는 방사성 동위원소에 의한 내부 피폭의 경우는 선량률에 따라 생물학적 효과가 달라지며 방사성 동위원소의 체내동태에 따라 조사선량의 차이가 생긴다. 이런 편차를 배제하고 일정한 조사선량에서 이 방사능에 의한 생물학적 효과를 보는것이 체외 조사 생물학적 선량 측정이다. 그러나 체외 조사때에도 김 등¹²⁾의 보고에서와 같이 체내 조사때와 마찬가지로 잔류 방사능에 따른 조사선량의 부정확성이 문제가 된다. 따라서 저자들은 이 연구에서 잔류 방사능의 영향을 배제하기 위하여 전혈 대신 분리한 단핵구에 체외조사하는 방법을 확립하였다. 분리 단핵구에 체외 조사 하였을때 선량-반응 관계를 찾기위해 0.05Gy에서 0.50Gy의 저선량과 0.75Gy에서 6Gy의 고선량 수준을 포함하여 Tc-99m에 의한 염색체 이상 빈도를 평가하여 표준 선량-반응 곡선을 작성 하였다.

따라서 재현성이 있고 실현 가능하며 조사선량과 염

색체 이상의 상관관계를 알아 볼 수 있는 분리 단핵구 체의 조사에 의한 생물학적 선량측정 방법이 내부 피폭자의 실제 피폭 영향을 반영 할 수 있다고 생각한다.

이 결과로 부터 저자들은 방사성 동위원소에 의한 내부 피폭자의 생물학적 선량 측정시에는 기존의 방사선 장애검진 항목으로 시행되고 있는 림프구 수 계측을 포함한 혈액학적 검사와 김등⁸⁾이 갑상선 암환자의 방사성 욕소 치료시 시행한 물리적 선량측정방법 그리고 본 연구의 생물학적 선량측정방법을 상호 보완적으로 사용하는 것이 바람직 하다고 생각하였다.

이 연구에서 저자들은 분리 단핵구에 체외 조사함으로써 잔류 방사능의 영향을 배제 하였을때 방사성 동위원소 Tc-99m의 체외조사 선량이 증가함에 따라 이상염색체의 빈도가 이차함수식으로 증가하는 표준선량 반응곡선을 얻어 보고 하였다. 또한 체외 조사를 이용한 생물학적 선량 측정에 기본인 분리 단핵구 체외조사 생물학적 선량 측정법을 확립하였으므로 방사성 동위원소 체내 피폭시 피폭자가 받은 생물학적 방사선 장애를 정량화하고 추정하는데 기여 하였다고 생각하였다.

요 약

연구목적 : 저자들은 I-131 전혈 체외 조사 결과를 바탕으로 I-131 과 Tc-99m을 전혈에 체외 조사 하였을때 잔류 방사능의 양을 비교하고 I-131 대신 Tc-99m을 사용하여, 잔류방사능의 영향을 배제 할수 있다고 알려진 림프구 또는 백혈구 연층을 분리하고 체외 조사후 배양하여 염색체 이상을 평가하는 것이 가능한지와 생물학적 선량 측정 방법으로 적절한지 알아 보았다.

방법 : 최근 3년간 0.001Gy(1 Rad) 이상의 방사선 조사를 받은적이 없는 건강한 사람의 말초혈액을 채취하여 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.30, 0.50Gy의 저선량에서부터 0.75, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00Gy의 고선량이 되도록 MIRD(Medical Internal Radiation Dosimetry)법의 조사선량에 따라 방사선량과 조사시간을 조정하여 I-131과 Tc-99m을 전혈에 조사하였으며 Tc-99m도 위와 같은 선량 범위에서 분리된 림프구(LeucoPREP 방법)와 백혈구 연층(Ficoll-

Hypaque 방법)에 조사하고 세척후 잔류 동위원소량을 측정된 후 배양하여 각각의 림프구의 불안정 염색체 이상(Ydr)을 관찰하였다. 이때 분리된 단핵구에서는 Hemocytometer로 림프구수를 계측하고 Trypan blue염색으로 림프구 생존능(Viability)을 확인하였다.

결과 : 전혈을 방사성 동위원소로 조사한 후 배양전에 배지용액으로 되풀이 세척한 후 측정된 잔류 방사능은 조사된 방사성 동위원소 용량과 조사 시간에 비례하였고 Tc-99m과 I-131사이엔 차이가 없었다. 백혈구 연층과 림프구 각각에 Tc-99m을 체외 조사하여 2회 세척한후 방사능 잔류량은 전혈에 비해 유의하게 낮아 거의 관찰되지 않았다.

분리된 백혈구 연층과 림프구 각각에 Tc-99m을 체외 조사후 배양하여 핵분열 중기 림프구에서 관찰한 불안정 염색체 이상(dicentric fragments, centric rings)(Ydr)의 빈도는 조사선량의 증가에 따라 이차함수식으로 증가하는 표준선량 반응곡선을 얻었다. 각각 linear-quadratic model을 적용하였을때 $Y_{dr} = 0.001949D^2 + 0.006279D + 0.000185$, $Y_{dr} = 0.002531D^2 - 0.003274D + 0.003488$ 이었다.

결론 : 방사성 동위원소 I-131과 Tc-99m의 체외 방사선 조사선량이 증가함에 따라 이상염색체의 빈도는 이차함수식으로 증가하는 표준선량반응곡선을 얻었으며 단핵구 분리 배양은 전혈 배양시에 남아있는 잔류 방사능을 무시 할 수 있어 정확한 방사성 동위원소의 피폭 선량을 반영 할 수 있으므로 내부 피폭에 의한 생물학적 선량 측정에 적합한 실험 모델이다.

REFERENCES

- 1) 김종순 : 방사선 안전관리, 고창순 편저, 핵의학 pp 163-165, 서울, 고려의학, 1992
- 2) Tubiana M, Dutreix J and Wambersie A: *Introduction to Radiobiology*, London, Talor and Francis, 1990
- 3) Zoetelief J, Broerse JJ: *Dosimetry for radiation accident: Present status and prospects for biological dosimeters*. *Int J Radiat Biol* 57: 737-750, 1990
- 4) Chung MH, Kasai H, Jones DS, Ishikawa H, Ohtsuka E, Nishimura S: *An endonuclease*

- activity of *E. coli* that specifically removes 8-hydroxyguanine residues from DNA. *Mutation Research*, 254: 1-2, 1991
- 5) Chung MH, Kim HS, Ohtsuka E, Kasai H, Yamamoto F, Nishimura S: An endonuclease activity in human polymorphonuclear neutrophils that removes 8-hydroxyguanine residues from DNA. *BBRC*, 178(3): 1472-1478, 1991
 - 6) Lee YJ, Lee HS, Park MK, Hwang ES, Park EM, Kasai H, Chung MH: Identification of 8-hydroxyguanine glycosylase activity in mammalian tissue using 8-hydroxyguanine specific monoclonal antibody. *BBRC*, 196(3): 1545-1551, 1993
 - 7) Lichter P, Cremer T, Borden J, Manuelidis L and Ward DC: Delineation of individual human chromosomes in metaphase and interphase cells by in situ suppression hybridization using recombinant DNA libraries. *Human Genetics* 80: 224-234, 1988
 - 8) Mendelsohn ML, Mayhall BH, Bogart F, Moore II DH and Perry BH: DNA content of the various radiation-induced chromosomal rearrangements in relation to the dose and sample time. *Science* 179: 1126-1129, 1991
 - 9) Arthur CU: Health effects of exposure to low levels of ionizing radiation. In: *Biological effects of ionizing radiations V*. pp 4-8, Washington D.C., National academy press, 1990
 - 10) 서두선, 김명선, 이재용, 김종순, 한승수 : 방사성옥소 투여에 따른 염색체 및 혈액학적 변화. 대한 혈액학회지 28(1):1993
 - 11) 김명선, 정내인, 이재용, 김종순, 김종호, 이명철, 고창순, 김희근, 강덕원, 송명재 : 갑상선암 환자에 대한 방사성옥소 치료시 물리적 선량 측정. 대한 핵의학회지 28(1): 124-132 1994
 - 12) 김은실, 김명선, 서두선, 정내인, 노승익, 이재용, 김종순, 한승수, 김희근, 강덕원, 송명재 : I-131의 체외 방사선 조사에 의한 염색체 이상. 대한 핵의학회지 28(1): 133-140, 1994
 - 13) Bianchi M, Bianchi NO, et al: Evaluation of radiation-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes in vitro, Result of an IAEA-coordinated programme. *Mutation Research* 96: 233-242, 1982
 - 14) IAEA: Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment, Technical Reports Series No. 260, Vienna, IAEA, 1986
 - 15) Natarajan AT, Vyas RC, Wiegant J and Curado MP: A cytogenetic follow-up study of the victims of a radiation accident in Goiania Brazil. *Mutation Research* 247: 103-111, 1991
 - 16) Bauchiner M, Schmid E, Streng S et al: Quantitative analysis of the chromosome damage at first division of human lymphocyte after Co-60 gamma-irradiation. *Radiat Environ Biophys* 22:225-229, 1983
 - 17) Pinkel D, Straume T and Gray J: Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitive, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences(USA)* 83: 2934-2938, 1986
 - 18) Bucton KE: Identification with G and R banding of the position of breakage points induced in human chromosomes by in vitro X-irradiation. *Int J of Radiat Biol* 29:475-488, 1976
 - 19) 이춘자, 하성환 : 저선량방사선에 의한 염색체 이상 빈도. 대한 치료방사선과학회지 11:233-240, 1993
 - 20) 안용찬, 하성환 : 체외 방사선조사시 인체 말초혈액 임파구의 염색체이상 빈도에 관한 연구. 대한 방사선 방어학회지 18: 1-16, 1993