

The Effect of Calcium and Chitosan Metabolism to the Excretion of Radiostrontium in Mice

Young-Ho Kim*[†], Hee-Seung Bom*, Ji-Yeul Kim*, Young-Bok Roh[†]

*Dept. of Nuclear Medicine Chonnam University Hospital,

[†]Dept. of Biology Chosun University, Kwangju, Korea

마우스에서 칼슘 및 Chitosan metabolism이 방사성스트론튬의 체외배출 효과에 미치는 영향

김영호*[†] · 범희승* · 김지열* · 노영복[†]

*전남대학교병원 핵의학과, [†]조선대학교 생물학과

Abstract—Chitosan, a natural nontoxic chelator, was reported to reduce whole body retention of radiostrontium in mice. As calcium has a similar chemical properties to strontium both of which be easily bound with hydroxyapatite structure, calcium can be either a competitor or enhancer to chitosan on the removal of radiostrontium. We compared the effect of chitosan and calcium on the excretion of ingested radiostrontium (⁸⁵Sr).

Chitosan or calcium(CaCl₂) and usual food was mixed as 1:99 by weight. The mixed food to chitosan (group 1) or calcium (group 2) were given orally for 30 days before ⁸⁵Sr administration. In other groups, mixed calcium and chitosan solution (group 3), 1% calcium (group 4), or 1% chitosan solution (group 5) was given for 7 days immediately after oral administration of ⁸⁵SrCl₂ (0.25μCi). In control group, no chitosan or calcium were given.

Either chitosan or calcium was effective on the removal of ⁸⁵Sr from mouse body(Table. 1). Addition of calcium on chitosan did not improve or deteriorate the effect of chitosan on the removal of ⁸⁵Sr from mouse body.

In conclusion, calcium was similarly effective on the removal of ⁸⁵Sr from mouse body.

Key word : chitosan, calcium, radiostrontium, excretion

요약—카이토산은 무독성 천연착화제의 일종으로 방사성스트론튬의 마우스체내축적을 감소시킨다고 알려져 왔다. 스트론튬은 칼슘이온과 비슷한 화학적 특성을 가지고 있으며, hydroxyapatite에 쉽게 결합하여 제거하기가 어렵다. 본 실험에서는 카이토산과 칼슘이온을 처리하였을 경우 방사성스트론튬의 체외배출 효과를 비교해 보았다.

1% 카이토산 혹은 칼슘을 일반식이와 혼합하여 섭취시킨후 방사성스트론튬을 관을 통해 구강으로 주입하였고, 방사성스트론튬 오염후 1% 카이토산 혹은 칼슘용액, 그리고 1% 카이토산과 칼슘을 혼합한

용액을 각각 구강주사하였다. 대조군은 카이토산 또는 칼슘을 처리하지 않았으며, 각각의 실험군은 10마리씩 7일간 관찰하였다.

모든 실험군에서 대조군에 비해 번과 오줌 등을 통한 스트론튬의 체외배출이 높게 나타났으며($p < 0.01$), 골조직 등의 침착율도 낮게 나타났다 ($p < 0.01$). 칼슘 투여군과 카이토산 투여군 간에는 유의한 차이가 없었다. 카이토산 단독투여군과 칼슘과 카이토산 동시 투여군 사이에는 방사성스트론튬 배설율에 차이가 없었다.

결론적으로, 칼슘은 카이토산과 동일하게 입으로 오염된 방사성스트론튬 제거에 효과가 있을 것으로 사료된다.

중심어 : 카이토산, 칼슘, 방사성스트론튬, 체외배출

서 론

방사성스트론튬($^{86}\text{SrCl}_2$, 이하 Sr-85), H-3, I-131, Cs-137 등은 방사능사고시 주위로 방출되어 각종 오염 경로를 통해 체내에 유입되면 심각한 피해를 유발시킨다[1~2]. 특히, 방사성스트론튬은 Ca 이온과 함께 2가 양이온 알칼리토금속으로서 Ca 이온과 경쟁하여 체내의 골조직(hydroxyapatite) 등에 오랜 기간 잔존(반감기 28년)하면서 골수세포 등에 작용하여 백혈구감소증, 백혈병, 암등을 유발시키는 방사성 독소(radiotoxin) 중의 하나로 알려져 있고 [3~5], 체내 골조직 등에서의 대사과정에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[6~10]. 화학적착화제 일종인 DTPA, CDTA, EDTA 등이 동물실험에서 인체의 방사성스트론튬 제거에 효과가 있는 것으로 평가되었지만[11], 이러한 화학적착화제는 그 자체가 지닌 독성으로 인하여 실제로 임상에 사용하기에는 어려움이 있어 안정성이 높은 무독성 착화제의 개발이 절실히 요구되고 있다.

카이토산(chitosan)은 게나 새우 등의 외골격 구성물질인 카이틴(chitin)의 탈아세틸화(deacetylation)반응을 통해서 얻어진 물질로 유전적 독성이 없는 것으로 알려져 왔으며, 2가 양이온에 대한 흡착능이 뛰어나[12~15], Sr-85에 오염된 마우스에 카이토산을 처리했을 경우 방사성스트론튬의 체외배출을 촉진하는 것으로 보고되었다[16]. 한편 방사성스트론튬이 칼슘이온과 경쟁적으로 골에 침착하기 때문에 칼슘이온을 다량투여하면 방사성스트론튬의 오염을 막을 수 있을 것으로 생각된다. 만약 칼슘이온과 카이토산을 동시에 투여한 경우에는 서로 상충

적으로 작용하여 방사성스트론튬 오염을 억제 또는 치료하는데 도움이 될 수도 있으나, 반대로 카이토산과 칼슘이온이 서로 경쟁적으로 반응하여 칼슘이온이 카이토산의 방사성스트론튬 체외배설 촉진효과를 방해할 가능성도 있다. 본 연구에서는 마우스에 칼슘과 카이토산을 각각, 그리고 동시에 투여하여 이들의 방사성스트론튬의 체외배출 촉진 효과를 비교해 보 고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 삼육축산에서 생산, 공급하고 있는 ICR계의 웅성마우스(25~35g, 8~10 주령)를 사용하였다. 마우스는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ (습도 45~60%)로 유지된 사육실에서 폴리카보네이트로 제작된 사육장(40×25×17cm)에서 사육하였으며, 사료와 급수는 ad libitum으로 공급하였다.

2. 칼슘, 카이토산 및 방사성스트론튬(Sr-85)

카이토산은 수용액에서 용해되는 수용성 카이토산으로서 분자량 100,000이하의(cps 2.54) 충무산업(여수) 제품을 생리식염수에 용해시켜 1%의 용액 형태로 0.01mg/B.W(g)을 관을 통해 구강으로 주입하거나, 분말상태로 일반식이와 혼합하여 30일간 총 0.3mg/B.W(g)을 먹였다.

칼슘이온은 수용액에서 용해되는 CaCl_2 분말로 기시다화학제품(일본)을 구입하여 생리식염수에 용해시켜 1%의 용액 형태로 0.01mg/B.W(g)을 관을 통해 구강으로 주입하거나, 분말형태로 일반식이와 혼합하

여 총 0.3mg/B.W(g)을 먹였다.

방사성스트론튬($^{85}\text{SrCl}_2$, 이하 Sr-85)은 Dupon사 (500 μCi , USA) 제품을 사용하였으며, 생리식염수에 희석하여 0.25 $\mu\text{Ci/ml}$ 가 되도록 조정하고, 각 마우스에 0.005 $\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 를 위장관튜브를 사용하여 구강으로 주입하였다.

3. 실험군 설정

실험군은 1) Sr-85를 관을 통해 구강으로 투입한 후, 일반 동물사료를 공급한 대조군, 2) 카이토산 1% 분말을 30일간 먹이고 Sr-85를 관을 통해 구강으로 주입한 군, 3) 칼슘 1% 분말을 30일간 먹이고 Sr-85를 관을 통해 구강으로 주입한 군, 4) Sr-85를 관을 통해 구강으로 주입한 후, 카이토산과 칼슘을 혼합한 1% 용액을 관을 통해 구강으로 주입한 군, 5) Sr-85를 관을 통해 구강으로 주입한 후, 칼슘 1% 용액을 관을 통해 구강으로 주입한 군, 6) Sr-85를 관을 통해 구강으로 주입한 후, 카이토산 1% 용액을 관을 통해 구강으로 주입한 군으로 각각 마우스 10마리씩을 1개 실험군으로 설정하여 7일간 관찰하였다.

4. 방사능계측

마우스에 Sr-85를 오염시킨 후 변화 오줌 등의 체외배설물을 분리 채취할 수 있는 동물체내대사용 케이지(Tokiwa Co., T-467A)에 개별 사육하였고, 변화 오줌등은 7일간 매일 채취하여 방사선량을 계측하였으며, 방사성스트론튬의 감마에너지(515Kev)와 방출비율(98%)을 고려하여 감마카운터(Hewlett-Packard, Cobra 5005, USA)를 이용하여 계측하였다.

5. 통계처리

각 실험군간의 통계학적 유의성은 개인용 컴퓨터의 SAS 통계프로그램을 사용하여 ANOVA test 및 t-test에 의해서 검정하였으며, 각 P값은 0.05미만의 것을 유의한 수준으로 고려하였고, 실험수치는 투여된 방사성스트론튬의 총 CPM수치에 대한 장기별 배설, 축적치에 대한 백분율을 적용하였으며, 측정간의 붕괴수치등의 물리적 요인은 보정하였으나, 생물학적

요인은 무시한 상대적인 수치만을 이용하였다.

결 과

칼슘과 수용성카이토산을 각각 처리한 군에서 7일후 체내 골조직 등에 잔존해 있는 ^{85}Sr 의 잔존율은 Table. 1과 같다.

^{85}Sr 를 관을 통해 구강으로 주입하고 일반식이를 공급한 대조군에서는 전체 골조직내에 약 $9.5 \pm 2.3\%$ 의 ^{85}Sr 가 축적되었고, 카이토산 및 칼슘 1%분말을 30일간 먹인후 ^{85}Sr 를 오염시킨 군에서는 각각 3.1 ± 1.0 과 $3.9 \pm 2.1\%$ 로 대조군에 비해 유의하게 낮은 축적율을 나타내었다 ($p < 0.01$). 그리고, ^{85}Sr 를 오염시킨후, 카이토산과 칼슘 이온을 각각 생리식염수에 녹여 1%로 구강주사한 군에서는 3.6 ± 0.6 과 $2.6 \pm 0.3\%$ 의 골조직 잔존율을 보여 대조군에 비해 유의하게 낮았다 ($p < 0.01$). 한편, ^{85}Sr 를 오염시킨후, 카이토산과 칼슘이온을 혼합하여 생리식염수에 녹여 1%로 만들어 구강주사한 군에서는 방사성스트론튬의 골조직 침착율이 $2.5 \pm 0.8\%$ 로 대조군에 비해 유의하게 낮았으나($p < 0.01$), 카이토산 또는 칼슘투여군과는 차이가 없었다.

칼슘 및 카이토산을 공급한 후 변화 오줌을 통해 7일간 체외로 배출된 배설량은 Table. 1 및 Fig. 1에 나타내었다.

Table 1. Cumulative Fecal and Urinary Excretion and Bony Retention of ^{85}Sr in mice

Groups	Fecal and urinary excretion (mean \pm SD)	Bony retention (mean \pm SD)
Control (n=10)	64.8 \pm 2.4	9.5 \pm 2.3
Group1 (n=10)	80.6 \pm 3.4*	3.1 \pm 1.0*
Group2 (n=10)	82.8 \pm 2.4*	3.9 \pm 2.1*
Group3 (n=10)	87.9 \pm 2.9*	2.5 \pm 0.8*
Group4 (n=10)	73.5 \pm 1.9*	3.6 \pm 0.6*
Group5 (n=10)	79.4 \pm 3.8*	2.6 \pm 0.3*

*P<0.01 as compared to control

Control : General food was fed after Sr-85 injection(p.o)
 Group 1 : Sr-85 was injected(p.o) after the feeding of chitosan powders(1%) for thirty days(p.o)
 Group 2 : Sr-85 was injected(p.o) after the feeding of calcium powders(1%) for thirty days(p.o)
 Group 3 : 1% of chitosan and calcium mixed solution was

injected(p.o) after Sr-85 injection(p.o)

Group 4 : 1% of chitosan solution was injected(p.o) after Sr-85 injection(p.o)

Group 5 : 1% of calcium solution was injected(p.o) after Sr-85 injection(p.o)

대조군에서는 ^{85}Sr 을 관을 통해 구강으로 주입한 후 변과 오줌으로 7일간 $64.8 \pm 2.4\%$ 가 배출되었고, 카이토산과 칼슘 등을 각각 30일간 구강섭취후, ^{85}Sr 를 오염시킨 군의 경우에는 $80.6 \pm 3.4\%$ 와 $82.8 \pm 2.4\%$ 의 체외 배출율을 나타내었고, ^{85}Sr 를 오염시킨후 카이토산과 칼슘이온을 각각 생리식염수에 녹여 1%로 관을 통해 구강으로 주입한 군의 경우 $73.5 \pm 1.9\%$ 와 $79.4 \pm 3.8\%$ 각각 배출되었으며($p < 0.01$), ^{85}Sr 오염 직후, 카이토산과 칼슘이온을 혼합하여 생리식염수에 녹여 1%로 만들어 관을 통해 구강으로 주입한 군에서는 $87.9 \pm 2.9\%$ 로 가장 높은 체외 배설율을 보여 대조군에 비해 카이토산과 칼슘을 혼합하여 공급한 군에서 ^{85}Sr 의 체외 배설이 유의하게 증가함을 나타내었다($p < 0.01$).

고찰 및 결론

카이토산은 유전적 독성이 없는 천연무독성 착화제로 보고되고 있다. 더구나 이를 적극 적으로 이용할 경우 새우, 게 등의 갑각류 등에 의해 매년 수억톤 이상이 생산되어 버려지고 있는 폐자원을 활용한다는 이점도 있다.

IAEA[17], Gong등[26]은 방사성스트론튬의 경우 체내에 흡수되면 주표적이 골조직 (trabecular bone)으로 일단 골조직에 침착되면 이를 제거하는데 상당한 어려움이 있다고 보고하였다. Ilyin등[1]은 방사성스트론튬이 각종 음식물 등을 통해 위장관으로 흡수될 경우 골조직등에 침착되어 심각한 질병을 유발시키며, Turext[18]는 인간의 골조직에 스트론튬이 약 234 ppm 존재한다고 보고하였다. Kshirsagar등[19]은 ^{90}Sr 과 ^{45}Ca 의 경우 체내 유입된 지 10분안에 흡수량의 50% 혹은 2/3가 골격에 침착된다고 보고하였으며, Barneid등[21]은 방사성스트론튬이 체내에 유입되면 흡수량의 약 90% 이상이 골격계에 침착되어 백혈구, 적혈구 감소증을 유발한다고 보고하였다.

Stather[4]은 마우스연령에 따른 여러 가지 방사핵종의 골격계 분포에 관한 연구를 통해 ^{85}Sr 의 경우 체내 흡수량의 90% 이상이 골격계에 분포함을 보고하였다. Macdonald등[20]은 방사표지된 ^{45}Ca 의 경우 ^{90}Sr 보다 훨씬 더 많은 양이 골격계에 침착된다고 보고하였고, Taylor등[22]은 쥐의 위장관 경로를 통한 칼슘, 스트론튬, 라듐, 바륨등의 흡수에 관한 연구를 통해 칼슘이 스트론튬보다 항상 2-3배 더 많이 흡수됨을 관찰하였으며, Newton등[6]은 칼슘이온의 유입량이 증가할 경우 방사성스트론튬의 골조직 침착율이 감소한다고 보고하였으며, Spencer등[23]은 5% glucose속에 칼슘을 첨가시켜서 환자에게 주사하였을 경우 방사성칼슘 및 방사성스트론튬의 체외배출이 촉진된다고 보고하였다. 또한, 김등[15,25]은 카이토산 및 알긴산 등을 방사성스트론튬에 오염된 마우스에 처치했을 경우 ^{85}Sr 의 골조직 침착을 억제하였다고 보고하였으며, 정등[24]은 스트론튬 오염시 CaNa_2DTPA , sodium alginate를 병행하여 처치하면 방사성스트론튬의 피폭을 경감시킬 수 있다고 보고하였

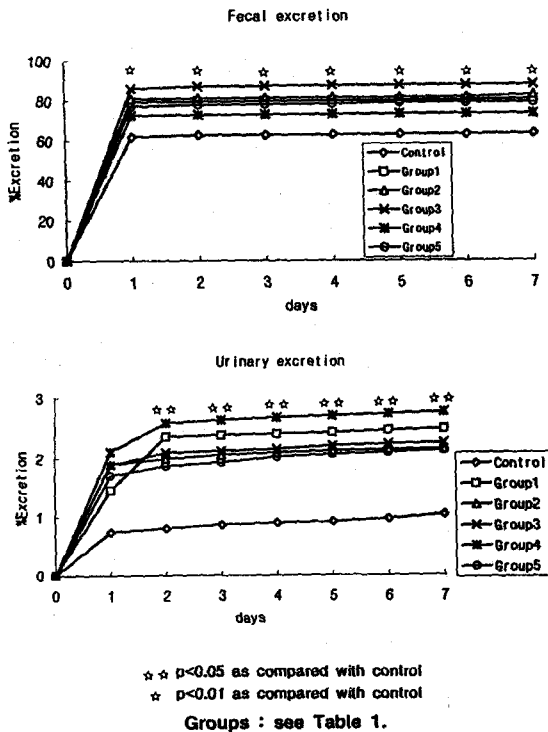


Fig. 1. Cumulative fecal and urinary excretion of ^{85}Sr after the treatment Ca and Chitosan.

다.

본 실험의 결과 ^{85}Sr 만 처리한 대조군에서 7일간 투여량의 61.1% 정도가 변을 통해 체외로 배출되었고, 카이토산 및 칼슘 1% 분말을 각각 30일간 구강섭취한 후 ^{85}Sr 를 오염시킨 경우에는 80.6%와 82.8%가 체외로 배출되었다. 카이토산과 칼슘을 1% 용액 상태로 각각 처리한 군에서는 71.7%와 78.3%가 체외로 배출되었다. 카이토산과 칼슘을 혼합하여 1% 수용액 상태로 공급한 군에서는 85.2%로 가장 높은 체외배출율을 나타냈는데, 이는 방사성스트론튬이 위장관을 통해 골에 침착되기도 전에 카이토산과 칼슘 혼합 용액이 강력한 착화제로 작용하여 방사성스트론튬을 체외로 배출시킴으로써 김등[25]의 카이토산과 알긴산을 이용한 실험과 마찬가지로 체내 골조직 등의 잔존율을 경감시켰다고 사료된다. 위와 같은 결과를 볼 때, ^{85}Sr 에 오염되었을 경우 카이토산 및 칼슘을 공급하면 ^{85}Sr 가 체내 소화관내에서 흡수되기 전에 이들 물질이 착화제로서 작용하여 체외배출을 촉진시키는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 카이토산과 칼슘을 ^{85}Sr 에 오염된 마우스에 처치시 골조직 등의 침착이 대조군에 비해 유의하게 낮음을 관찰하였는데, 착화제 처리 기간을 7일과 30일로 설정하였기 때문에 그 이상의 장기복용을 통해 지속적으로 카이토산과 칼슘등이 방사성 스트론튬의 체내 상호 대사를 연구할 필요가 있을 것으로 사료되며, 또한 방사성스트론튬 오염시 일어나는 효소 변화 등과 같은 생리적인 작용을 연구할 필요가 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 전남대학교 병원 임상연구소 학술연구비를 지원받아 수행하였습니다.

참 고 문 헌

1. L. A. Ilyin, A. T. Ivnikov, YU. D. Parfenov and V. P. Stolyarov, "Strontium absorption through damaged and undamaged human skin." *Health*

- Phys.* 29, 75-80 (1975).
2. L. V. Kostantinove and A. J. Gonzalez : The radiological consequences of the chernobyl accident." *Nuclear Safety*, 30(1), 53-69(1989).
3. R. J. Stara and N. S. Nelson, "Comparative metabolism of radionuclides in mam-mals : A Review." *Health Phys.* 20, 113-137(1971).
4. J. W. Stather, "Distribution of ^{32}P , ^{45}Ca , ^{85}Sr , and ^{133}Ba as a function of age in the mouse skeleton." *Health Phys.* 26, 71-79(1975).
5. D. P. Osanov, V. P. Panova and S. S. Arefieva, "Evaluation of age influence on accumulation and elimination rate of radioactive strontium." *Health Phys.* 21, 205-210(1971).
6. D. Newton, G. E. Harrison, J. Rundo, C. Kang, and A. J. Warner, "Metabolism of Ca and Sr in late adult life." *Health Phys.* 59(4), 433-442 (1990).
7. J. D. Burton and E. R. Merer, "Discrimination between strontium and calcium in their passage from diet to the bone of adult man." *Nature.* 193(4818), 846-847 (1962).
8. R. C. Likins, A. S. Posner, M. L. Kunde, and D. L. Craven, "Comparative meta-bolism of calcium and strontium in rat." *Archive of Biochemistry and Biophysics.* 83, 472-481(1959).
9. P. A. Dumont, A. K. Solomon, "Calcium and strontium in rat small intestine their fluxes and their effect on na flux." *J. Gen. Physiol.* 43, 1119-36(1960).
10. M. D. Grynypas and P. J. Marie, "Effect of low doses of strontium on bone quality and quantity in rats." *Bone.* 11, 313-319(1990).
11. H. Spence, L. Kramer and J. Samachson, "Strontium-90 calcium interrelationships in man." *Health Physics.* 24, 525-533(1973).
12. A. Ortega and M. Gomez, "The removal of strontium from the mouse by chelating agents." *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18, 612-616

- (1989).
13. 김용무, 최규석, "Chitosan유도체계 chelating polymer의 합성 및 그 금속이온들의 흡착특성에 관한 연구." *폴리머*. 9, 417-434(1985).
 14. K. Arai, T. Kinumaki and T. Fujita, "Toxicity of chitosan." *東海水研報*. 337, 88-94(1968).
 15. K. Y. Kim, H. S. Bom, C. S. Oh, H. C. Lee, R. D. Park, H. K. Kim, Y. H. Kim, K. H. Choi, K. M. Chae and J. Y. Kim, "Genetic toxicity of chitosan and EDTA in mice", in the 10th Symposium of the chitin and chitosan, *The chitin and chitosan Research*, 1996.
 16. 범희승, 김광윤, 양광희, 채기문, 최근희, 송호천, 김지열, "카이토산을 이용한 방사성 스트론튬 오염의 치료." *대한방사선방어학회지*, 19(3), 230-234(1994).
 17. IAEA safety series No 47, "Manual on early medical treatment of possible radiation injury." IAEA, 1978.
 18. K. Karl, Turext and J. Laurence, "Strontium content of human bones." *Science*. 124, 405-407 (1956).
 19. S. G. Kshirsagar, D. Phill and J. Vaughan, "Discrimination between strontium and calcium in bone the transfer from blood to bone in the rabbit." *J. British. Radio*. 39, 131-140(1965).
 20. N. S. Macdonald, P. Noyes and P. C. Lorick, "Discrimination of calcium and strontium by the kidney." *J. Americal. Physiol*. 188(1), 131-136 (1957).
 21. AAV. Barneid, V. Puymbroeck and O. Vanderbrought, "The action of sodium alginate in the food on a Sr body burden in mice." *Health Physics*. 33, 533-537(1977).
 22. D. M. Taylor, P. H. Bligh and H. Duggan, "The absorption of calcium, strontium, barium and radium from the gastrointestinal tract of the rat." *J. Biochem*. 83, 25-29(1962).
 23. H. Spencer, J. Samachson and J. River, "Effect of intravenous calcium and of orally administered ammonium chloride on strontium-90 excretion in man." *Radiat. Res*. 25, 696-705(1965).
 24. 정인용, 김태환, 진수일, "방사성스트론튬의 체내 오염에 대한 응급처치제의 효과." *대한방사선방어학회지*. 14, 16-22(1989).
 25. 김희경, 김광윤, 범희승, 최근희, 김지열, "마우스에서 경구투여한 방사성스트론튬의 제거에 대한 경구투여 카이토산과 알긴산의 효과," *대한핵의학학회지*. 27(1), 130-134(1993).
 26. J. K. Gong, E. Burgess and P. Bacalao, "Accretion and exchange of strontium-85 in trabecular and cortical bones." *Radiat. Res*. 28, 753-765 (1966).