

Induction of Micronuclei in Human and Mouse Lymphocytes Irradiated with Gamma Radiation and Effect of *Panax ginseng* C.A. Meyer

Sung-Ho Kim, Heon Oh, Song-Eun Lee, Yun-Sil Lee*, Tae-Hwan Kim*,
Kyu-Sik Jeong** and Si-Yun Ryu†

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

**Korea Cancer Center Hospital,*

***Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology*

†College of Veterinary Medicine, Chungnam National University

마우스와 사람 림프구에서 방사선에 의한 미소핵의 형성 및 고려인삼의 효과

김성호 · 오현 · 이승은 · 이윤실* · 김태환* · 정규식** · 류시윤†

전남대학교 수의과대학, *한국원자력병원, **생명공학연구소, †충남대학교 수의과대학

Abstract—The frequencies of γ -ray-induced micronuclei (MN) in cytokinesis-blocked (CB) lymphocytes at several doses were measured in three donors of human and C57BL/6 mice. Measurements performed after irradiation showed a dose-related increases in MN frequency in each of the donors studied. The relative sensitivity of mouse in spleen lymphocytes (SLs) compared with human peripheral blood lymphocytes (PBLs) was estimated by best fitting linear-quadratic model based on the radiation-induced MN data over the range from 0 cGy to 400 cGy. In the case of MN frequency with 0.2 per CB cell, the relative sensitivity of mouse SLs was 1.67. Compared with the radiation-induced MN formation in the PBLs of human, the SLs of mouse were more radiosensitive. Using this MN assay with human PBLs and mouse SLs, studies were performed to determine whether the water fraction of ginseng (*Panax ginseng* C.A.Meyer) against radiation-induced MN in human PBLs after *in vitro* irradiation (3Gy) and in SLs of C57BL/6 mice after *in vivo* irradiation (3Gy). The frequency of MN in human PBLs was reduced by water fraction of ginseng (0.5mg/ml of medium) both pre-and post treatment ($p < 0.01$) *in vitro*. In addition, the frequency of MN in mouse SLs was also reduced by pretreatment of ginseng (2mg/ml of drinking water for 7days) *in vivo*. The data suggested that the

ginseng may reduce cell damage caused by γ -rays *in vitro* and *in vivo*. Further studies are needed to characterize better the protective nature of ginseng extract, its fractions and compounds.

Key words : Micronuclei, Lymphocyte, Mouse, Human, Radiation, Ginseng

요약-사람의 말초혈액림프구와 C57BL/6마우스의 비장림프구를 사용하여 시험관내에서 감마선을 조사하고 배양하여 세포질분열 차단 림프구내에 형성되는 미소핵의 빈도를 측정하였다. 미소핵 발생빈도는 방사선조사 선량에 비례하여 증가하였으며 lineal-quadratic 곡선식에 적용하여, 세포 당 0.2개의 미소핵이 유도되는 방사선량을 산출하면 사람의 말초혈액 림프구에 비하여 마우스 비장림프구에서 1.67배 민감하였다. 미소핵시험방법을 이용하여, 사람의 말초혈액 림프구에 대한 인삼의 방사선 방호효과를 시험관내 시험으로, 마우스의 비장림프구에 대한 효과를 생체내 시험으로 검정하였다. 사람림프구에 있어서 방사선(3Gy)에 의해 유도되는 미소핵의 수는 방사선조사 전 및 후 투여군에서 공히 감소하였으며($p < 0.01$), 마우스를 사용한 생체시험에서도 림프구의 미소핵 발생빈도는 낮게 관찰되었다($p < 0.025$). 이상의 결과에서 인삼은 인체에서도 방사선에 의한 세포장해를 감소시킬 가능성을 나타냈다.

중심어 : 미소핵, 림프구, 마우스, 사람, 방사선, 인삼

서 론

인체에 대한 유전독성 평가는 기타 생물학적 실험 방법을 이용하여 투여용량, 경로, 세포의 유형 등을 근거로 수행되며 최종적으로 인체에 대한 결과 도출의 가능성을 확인하는 것이다. 세포유전학적 분석에 있어서 림프구는 주로 사용되는 세포로, 비교적 수명이 길고, 정상상태에서는 분열하지 않으며 표본의 채취가 용이하여 특히 방사선 피폭에 대한 생물학적 선량측정 방법으로 많이 사용된다[1-4]. 기존의 염색체 분석법에 비하여 미소핵검사는 염색체 검사에 관한 특별한 숙련이나 기술 없이도 분석이 비교적 쉬우며 단기간에 수행될 수 있다. 특히 세포질 분열 차단 림프구(cytokinesis-blocked lymphocyte, CB 림프구)의 사용에 따라 방사선생물학 분야의 연구에는 더욱 용이하다[5-9].

방사선 방호제는 Patt 등[10]에 의하여 연구가 시작된 이래 합성물질에 대한 연구가 주종을 이루었으며, 다수의 후보물질이 자체의 심각한 독성에도 불구하고 암의 방사선 치료 분야 등에 적용을 목적으로 계속 연구되고 있다[11, 12]. 최근 생약과 같은 자연산생물(natural product)에 의한 방사선의 생체반응 변화에 대한 연구가 관심의 대상이 되고 있으며 이와 같은 관점에서 인삼의 방사선방호효과도 다수의 연구[13-20]가 진행되었으나 다양한 실험방법을 적용한 연구가 요구된다.

변이 유발물질 검색의 최종 목표가 인체에 대한 직접적 효과 검사 또는 결국 인체에 대한 외삽 가능성이란 관점에서 본 연구는 마우스와 사람의 림프구를 사용하여 방사선에 의한 장해의 정도를 파악하고 결과를 비교하며 인삼의 효과를 시험관내 및 생체시험을 통하여 검정하므로써 미소핵분석법의 유용성과 인삼의 효능 및 기타 반응조절물질 검색을 위한 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 미소핵분석법

1) 세포배양

세명의 건강한 남자(29세, 28세, 33세)의 말초혈액 및 9주령 C57BL/6마우스의 비장세포에서 Ficoll-Hypaque gradient방법으로 림프구를 채취하고 HBSS에 수세 후 15% heat inactivated foetal calf serum, L-glutamine, 2-mercaptoethanol과 항생제가 첨가된 RPMI1640 배지에 부유시켰다. 림프구는 multi-well tissue culture plate(Corning, No. 25820, NY)를 사용하여 배지 ml당 5×10^5 개의 농도로 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였으며 최적phytohaemagglutinin (PHA, Sigma, MO, 25F-0640)농도인 5 μ g/ml을 적용, 림프구의 분열을 유도하였다.

2) 방사선조사

분리된 림프구는 멸균된 polystyrene tube(Corning, No. 25310-15, NY)에 분주하여 PHA첨가 직전에 100, 200, 400 cGy의 ⁶⁰Co γ-선을 1090 cGy/min의 선량율로 1회 조사(Gammacell 3000 Elan, Nordion International Co., Canada)하였다.

3) Cytokinesis-blocked method

Cytochalasin B (Cyt-B, Aldrich Chemical Co.)는 dimethylsulphoxide에 ml당 2mg의 양으로 원액을 만들어 -70℃에 보관하였으며 예비 실험을 통하여 얻어진 최적시간 및 용량을 적용, 마우스 비장 림프구의 경우 배양 21시간에, 인체 림프구의 경우 배양 44시간에 배지 ml당 4μg의 양으로 혼합하였다. 마우스 림프구는 배양개시 후 50시간에, 인체 림프구는 72시간에 세포를 수확하였으며 cytocentrifuge를 이용하여 검경용 표본을 만들고 건조 후 10% Giemsa 용액에 10분간 염색하였다.

4) 미소핵의 검경

미소핵은 유침하에서 1000배 배율의 현미경으로 기존의 검경기준[5]을 적용하여 관찰하였으며 간단히 기술하면, 주핵에서 분리된 구형으로 지름이 주핵의 50% 이하이며 이핵세포의 세포질내에 존재하여야 하고 빛의 반사와 같은 형상이 없고 염색성이 주핵에 비하여 진하지 않은 것을 미소핵으로 판정하였다. 모든 성적의 분석은 Graph PAD In Plot program을 사용하였다.

2. 인삼의 효과검색

1) 실험대상

사람 말초혈액 림프구를 분리하여 시험관내 시험에 적용하였고 마우스를 이용한 생체시험은 8주령 C57 BL/6마우스를 사용하였다.

2) 인삼시료제조

백삼가루에 3배 용량의 증류수를 첨가하여 상온에서 하루동안 추출하고 감압농축후 동결건조 하였으며, 동결건조분말을 메탄올에 녹인 후 침전물(수율 10.1

%)을 인삼수층으로 하여 실험에 적용하였다.

3) 시험군 설정 및 방사선조사

사람 말초혈액 림프구는 정상대조군, 배지내 인삼 처리군(배지 ml당 0.5mg), 방사선 단독 조사군(3 Gy), 방사선조사전 인삼처리군(방사선조사 전 30분 동안), 방사선조사 후 인삼처리군(방사선조사 후 72시간 동안) 등으로 나누었다. 마우스는 정상대조군, 방사선 단독조사군 및 방사선 조사전 인삼투여군(음수 ml당 2mg의 양으로 7일 동안)으로 하였으며 기존의 실험적 방사선 방호제로 알려진 diethylditiocarbamate(DDC, Sigma)를 방사선조사 30분전에 1회 주사(체중 Kg당 1000mg, 복강내 주사)한 군과 비교하였다.

4) 결과 분석

마우스는 방사선 조사 직 후 희생시켜 비장림프구를 분리하였으며 cytokinesis-blocked method 및 현미경 검경은 상기의 방법과 동일하게 실시하였다.

결 과

CB 림프구, 즉 2개의 핵을 가진 림프구는 PHA 5 μg/ml, Cyt-B 4μg/ml에서 가장 높게 형성되었으며 사람림프구에서는 약 31%가 유도되었으나 마우스의 경우 0.6%로 극히 저조하였다.

미소핵의 발생 양상은 그림 1 및 표1-3과 같으며 방사선조사에 따라 linear-quadratic model을 적용하여 얻은 곡선식은 사람 말초혈액 림프구에서 $y = 1.18D + 0.00187D^2 + 10$ (sum of squares = 514.7, df = 2, $r^2 = 0.999$) 이며, 마우스 비장림프구는 $y = 2.32D + 0.0010D^2 + 9$ (sum of squares = 8748.5, df = 2, $r^2 = 0.987$) ($y = 1000$ 개 세포당 MN의 수, $D =$ 방사선조사량 cGy)였다. 사람에게 대한 마우스의 상대감수성을 구하기 위하여 $y = aD + bD^2 + C$ 를

$D = \frac{-a \pm \sqrt{a^2 - 4b(C - y)}}{2b}$ 로 전환하여 위의 식을 근거로 세포당 미소핵의 수를 측정하였고 세포당 0.2개의 미소핵이 발생되는 방사선량의 상대비를 산출하면 마우스 비장림프구가 인체 말초혈액 림프구에 비하여 1.67배 감수성이 높았다(표 4).

인삼을 투여한 결과 사람림프구를 사용한 시험관내 시험에서 방사선조사 전(36%) 및 후(26%) 투여군에서 공히 미소핵 형성 억제 효과를 나타냈으며(p<0.01, 표 5), 마우스를 사용한 생체시험에서도 비슷한 결과를 나타냈다 (p<0.025, 표 6). DDC주사군에서는 약 50%의 미소핵의 형성이 억제되어 유의성 있는 효과를 나타냈다(p<0.001, 표 6).



Fig. 1. Cytochalasin Blocked Cells without a MN (A), with 1MN(B), and 2MN(C).

고 찰

사람의 말초혈액 림프구 및 마우스의 비장 림프구를 사용하여 방사선에 의해 유도되는 미소핵을 측정하고 상대적 감수성의 차이 등을 파악하며 각각의 림프구의 미소핵 형성에 대한 인삼의 효과를 생체 및 시험관내 시험을 통하여 검정하였다.

골수세포를 이용하는 전통적인 미소핵 검사에 비하여 세포질분열 차단 림프구에서의 미소핵 검사는 일회 분열의 확인 및 미분열세포의 배제가 가능하여 방사선생물학분야에서의 선량측정 및 반응조절물질의 효과 검정 시험에 많이 적용되고 있다[4-9]. 대부분의 실험들이 인체유래의 림프구를 사용하였으며 그 이유는 본 연구의 결과에서도 나타난 것 처럼 CB세포의 유도가 가장 용이 하기 때문이다. 그러나 인체에 대한 연구는 시험관내 시험을 통한 결과의 산출만이 가능

Table 1. Micronuclei (MN) per 500 cytokinesis-blocked lymphocytes following γ -irradiation of human peripheral blood

Experimental group	No.of cells without MN	Number of micronuclei per cell				Total number of MN
		1	2	3	4	
donor 1 : male, 29y						
0 cGy	495	5				5
100 cGy	439	60	1			62
200 cGy	363	104	28	5		175
400 cGy	214	203	65	18		387
donor 2 : male, 28y						
0 cGy	493	7				7
100 cGy	445	52	3			58
200 cGy	355	125	14	6		171
400 cGy	241	187	54	15	3	352
donor 3 : male, 33y						
0 cGy	497	3				3
100 cGy	432	63	5			73
200 cGy	363	119	16	2		157
400 cGy	189	213	80	14	4	431

Table 2. Micronuclei (MN) per 500 cytokinesis-blocked lymphocytes following γ -irradiation of mouse spleen lymphocytes

Experimental group	No. of cells without MN	Number of micronuclei per cell				Total number of MN
		1	2	3	4	
donor 1						
0 cGy	495	5				5
100 cGy	423	69	5	3		88
200 cGy	293	166	33	6	2	258
400 cGy	143	241	81	27	8	516
donor 2						
0 cGy	496	4				4
100 cGy	416	70	12	2		100
200 cGy	255	189	44	12		313
400 cGy	78	284	111	21	6	593
donor 3						
0 cGy	496	4				4
100 cGy	431	61	7	1		78
200 cGy	262	196	38	4		284
400 cGy	121	260	94	20	5	528

Table 3. Frequency of micronuclei in cytokinesis-blocked (CB) cells following treatment with γ -rays

Dose(cGy)	micronuclei per CB cell(M \pm SD)
Human	
0	0.01 \pm 0.004
100	0.129 \pm 0.016
200	0.335 \pm 0.019
400	0.78 \pm 0.079
Mouse	
0	0.009 \pm 0.001
100	0.177 \pm 0.002
200	0.57 \pm 0.055
400	1.091 \pm 0.083

Table 4. Relative sensitivity of micronuclei (MN) induction of spleen lymphocytes from mouse to human peripheral blood lymphocytes following treatment with γ -rays

MN per cell	Human dose(Dh) required(cGy)*	Mouse dose(Dm) required(cGy)*	Relative sensitivity (Dh/Dm)
0.05	32.16	17.29	1.86
0.1	68.60	38.49	1.78
0.2	132.71	79.44	1.67
0.4	239.19	157.48	1.52
0.8	406.59	301.00	1.35

* Calculated from fitting linear-quadratic model.

Table 5. Frequency of micronuclei in binucleated human lymphocytes treatment with γ -ray and water fraction of ginseng *in vitro*

Treatment	Micronuclei per cell(M \pm S.D.)
Untreated control	0.009 \pm 0.002
Ginseng control(0.5mg/ml)	0.007 \pm 0.003
Irradiation control(3 Gy)	0.547 \pm 0.022
Ginseng(30min. before irradiation) + irradiation	0.348 \pm 0.037 ^a
Irradiation + ginseng (72 hrs after irradiation)	0.407 \pm 0.043 ^a

^ap<0.01 as compared with irradiation control.

Table 6. Frequency of micronuclei in binucleated mouse spleen lymphocytes following *in vivo* treatment with γ -rays and radioprotective materials

Treatment	Micronuclei per cell(M \pm S.D.)
Untreated control	0.0079 \pm 0.0015
Irradiation control(3 Gy)	0.4357 \pm 0.0315
Ginseng(2mg/ml of drinking water, for 7days) + irradiation	0.3349 \pm 0.0282 ^a
Diethylditiocarbamate (1000mg/kg B.W., single I.P. at 30 min. before irradiation)	0.2191 \pm 0.0135 ^b

^ap<0.025 as compared with irradiation control.

^bp<0.001 as compared with irradiation control.

하며 아직 사고 발생에 따른 미소핵검사의 결과도 보고된 바 없다. 따라서 염색체 분석법을 적용한 실험들과 같이, 생체시험을 위한 방법의 모색 및 동물별 감수성의 차이 등이 미소핵 검사에서도 연구되어야 할 분야이다. 마우스는 소형의 실험동물로서 생리적, 유전적 정보 등이 가장 자세히 알려져있고 경제적인 관점에서 모든 연구의 기본 실험동물로 사용된다[21]. 본 연구의 결과 마우스 비장 림프구의 인체 말초혈액 림프구에 대한 상대적 방사선 감수성이 높게 나타난 것은 비장림프구를 사용한 것, 또는 마우스의 낮은 CB세포 유도율이 원인이 될 수 있을 것이며 비장림

프구가 말초혈액 림프구에 비하여 방사선에 민감하다는 Fenech 등[22]의 결과와 일치하였다. 본 실험에서 마우스의 림프구를 사용한 실험은 극히 낮은 CB세포 유도율로 인하여 매우 어렵고 결과 판정을 위한 검정에 많은 시간이 소요 되었다. 설치류의 림프구를 사용한 미소핵 실험의 보고가 극히 소수인 이유가 낮은 CB 세포 형성에 기인 된 것으로 사료 되었다.

방사선 및 화학요법시 함께 적용 될 경우 큰 효과를 얻을 수 있을 것이라는 가정 하에 과거 수십년간 화학적 방사선 증감제(radiosensitizer) 및 방사선 방호제(radioprotector)가 연구의 주요 대상으로 간주 되어 왔으며 몇몇 약제들이 임상시험과정 중에 있기도 하지만 약제 자체의 심각한 독성으로 실제 사용에는 한계를 보이고 있다[23, 24]. 인삼은 전통적인 생약으로 많은 연구자에 의해 과학적으로 성분 및 효능이 밝혀지고 있으며[25] 방사선에 대한 효과연구는 1980년 이후 Yonezawa등[15]에 의해 γ 선 조사 마우스, Takada 등[16]에 의해 X선조사 마우스, 랫트 및 기니피에서 인삼의 방호효과가 보고 되었다. Zhang 등[19]은 인삼의 물분획에서 방사선 방호효과가 있었으며 단백질, 탄수화물 분획은 약간의 효과를 보였고 사포닌분획은 효과가 전혀 없었다는 결과를 얻었다. 그러나 이들 연구는 단지 생존율을 중심으로한 연구로서 보다 다양한 실험법을 적용한 연구가 요구되어 왔다. 국내에서는 김 등이 인삼의 알카로이드분획 및 물분획의 효과를 마우스소장암의 생존율 및 마우스 CB림프구를 사용한 시험관내 시험에서 γ 선 피폭 후 세포의 사멸, 재생 및 DNA장애에 대한 효과를 관찰 하였으며[14], 마우스 털수질세포에 대한 연구를 통하여 체표면의 방사선손상에 대한 효과도 보고하였다 [20].

본 연구에서 도출된 마우스 림프구 및 사람 림프구에서의 미소핵 형성 양상을 근거로 인체 림프구에 대한 인삼의 방호효과가 시험관내 시험에서 확인 되었으며 마우스를 사용한 생체시험에서도 같은 결과를 보이므로써 인삼의 방사선 방호효과가 재확인 되었다. 마우스 림프구를 사용한 시험관내 시험의 성적과 생체시험에 적용된 방사선용량에서의 결과를 비교하면

생체시험에서의 미소핵발생빈도가 현저히 낮게 나타났으며 이는 마우스 림프구에서, 시험관내 시험의 결과가 생체내 시험에 비해 2배이상의 미소핵이 유도된다는 보고[22]와 일치하였으며, 생체의 경우 아스콜빅산, 토코페롤, 요산 등의 항산화제가 존재하며[26, 27], 특히 설치류의 경우 비타민 C의 체내 합성능[28] 등이 영향을 미친 것으로 사료된다.

마우스와 인체 유래 림프구에서 방사선에 의한 미소핵 형성의 양상 및 실험적용의 장단점이 파악되었고 이를 적용하여 독성이 거의 없는 인삼의 효과를 인체세포를 사용한 시험관내 시험 및 마우스를 사용한 생체 시험에서도 재확인 할 수 있었다. 추 후 인삼의 각 분획 별, 성분별 효과 및 기타 동물을 사용한 연구가 계속 되어야 할 것 이다.

감사의 글

* 본 연구는 96년도 한국과학재단의 연구비지원에 의한 결과의 일부임.

참 고 문 헌

1. J.G. Brewen, R.J. Preston and L.G. Littlefield, "Radiation-induced human chromosome aberration yields following an accidental whole-body exposure to ⁶⁰Co gamma-rays." *Radiat Res.* 49, 647-656 (1972).
2. G. Stephan, W. Hadnagy, C. Hammermaier and U. Imhof, "Biologically and physically recorded doses after an accidental exposure to ⁶⁰Co-gamma rays." *Health Phys.* 44, 409-411 (1983).
3. IAEA, International Atomic Energy Agency, *Biological dosimetry : chromosomal aberration analysis for dose assessment*, Technical report 260, Vienna, IAEA publication, Vienna (1986).
4. W.-U. Muller, and C. Streffer, "Biological indicators for radiation damage." *Int. J. Radiat. Biol.* 59, 863-873 (1991).
5. Z. Almassy, A.B. Krepinsky, A. Bianci and G.J. Koteles, "The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review." *Appl. Radiat. Isot.* 38, 241-249 (1987).
6. A. Ramalho, I. Sunjevaric and A.T. Natarajan, "Use of frequencies of micronuclei as quantitative indicators of X-ray-induced chromosome aberrations in human peripheral blood lymphocytes : comparison of two methods." *Mutation Res.* 207, 141-146 (1988).
7. R. Hubber, H. Braselmann and M. Bauchinger, "Intra- and inter-individual variation of background and radiation-induced micronucleus frequencies in human lymphocytes." *Int. J. Radiat. Biol.* 61, 655-661 (1992).
8. A. Vral, H. Thierens and L. de Ridder, "Study of dose-rate and split-dose effects on the in vitro micronucleus yield in human lymphocytes exposed to X-rays." *Int. J. Radiat. Biol.* 61, 777-784 (1992).
9. S.H. Kim, C.K. Cho, T.H. Kim, S.Y. Yoo, K.H. Koh and H.G. Yun, "Frequency of micromuclei in lymphocytes following gamma and fast-neutron irradiations." *Anticancer Res.* 13, 1587-1592 (1993).
10. H. Patt, M. Tyree and R.L. Straube, "Cystein protects against x-irradiation." *Science.* 110, 213-214 (1949).
11. T.R. Sweeney, *A survey of compounds from the antiradiation drug development program of the U.S. army medical research & development command.* Walter Reed Army Institute of Research. Washington, DC, (1979).
12. M.M. Kligerman, M.T. Shaw, M. Slavid and J.M. Yudas, "Phase I clinical studies with WR2721." *Cancer Clin. Trials.* 3, 217 (1980).
13. Y. Fujii, M. Imamura, M. Han, S. Hashino, X. Zhu, H. Kobayashi, K. Imai, M. Kasai, K. Sakurada and T. Miyazaki, "Recipient-mediated ef-

- fect of a traditional Chinese herbal medicine, ren-shen-yang-rong-tang (Japanese name : nin-jin-youei-to), on hematopoietic recovery following lethal irradiation and syngeneic bone marrow transplantation." *Int. J. Immunopharmacol.* 16, 615-622 (1994).
14. S.H. Kim, C.K. Cho, S.Y. Yoo, K.H. Koh, H.G. Yun and T.H. Kim, "In vivo radioprotective activity of Panax ginseng and diethylthiocarbamate." *In Vivo.* 7, 467-470 (1993).
 15. M. Yonezawa, N. Katoh and A. Takada, "Restoration of radiation injury by ginseng II. Some properties of the radioprotective substances." *J. Radiat. Res.* 22, 336-343 (1981).
 16. A. Takada, N. Katoh and M. Yonezawa, "Restoration of radiation injury by ginseng III. Radioprotective effect of thermostable fraction of ginseng extract on mice, rats and guinea pigs." *J. Radiat. Res.* 23, 150-167 (1982).
 17. R.J. Zhang, J.K. Quin, G.H. Yang, B.Z. Wang and X.L. Wen, "Medicinal protection with Chinese herb-compound against radiation damage." *Aviat. Space Environ. Med.* 61, 729-731 (1990).
 18. Y. Ohnishi, R. Yasumizu, H.X. Fan, J. Liu, F. Takao Liu, Y. Komatsu, E. Hosoya, R.A. Good and S. Ikehara, "Effects of juzen-taiho-toh (TJ-48), a traditional Oriental medicine, on hematopoietic recovery from radiation injury in mice." *Exp. Hematol.* 18, 18-22 (1990).
 19. J. -S. Zhang, C.P. Sigdestad, M.A. Gemmell and D.J. Grdina, "Modification of radiation response in mice by fractionated extracts of panax ginseng." *Radiat. Res.* 112, 156-163 (1987).
 20. S.H. Kim, D.W. Han, Y.W. Jeong, D.Y. Jeong, M.I. Kang, J.T. Lim, T.H. Kim and Y.S. Lee, "The radioprotective effect of Panax ginseng on the hair medullary cell in irradiated mice." *Korean J. Ginseng Sci.* 20, 149-153 (1996).
 21. J. Staat, "Standardized nomenclature for inbred strains of mice : Seventh listing." *Cancer Res.* 40, 2083-2128 (1980).
 22. M.F. Fenech, V. Dunaiski, Y. Osborne and A.A. Morley, "The cytokinesis-block micronucleus assay as a biological dosimeter in spleen and peripheral blood lymphocytes of the mouse following acute whole-body irradiation." *Mutation Res.* 263, 119-126 (1991).
 23. T.L. Phillips, T.H. Wasserman, J. Stetz and L.W. Brady, "Clinical trials of hypoxic cell sensitizers." *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 8, 327-334 (1982).
 24. A.T. Turrisi, M.M. Kligerman, D.J. Glover, J.H. Glick, L. Norfleet and M. Gramkowski, "Experience with Phase I trials of WR-2721 preceding radiation therapy." In : *Radioprotectors and anticarcinogens*, O.F. Nygaard and M. Simic, eds., pp. 681-694, Academic Press Inc, New York (1983).
 25. 남기열, "최신 고려 인삼(성분 및 효능 편)." 한국인삼연구초연구원(1996).
 26. B. Frei, R. Stocker and B.N. Ames, "Antioxidant defences and lipid peroxidation in human plasma." *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*. 85, 9748-9752 (1988).
 27. B. Frei, L. England and B.N. Ames, "Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma." *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*. 86, 6377-6381 (1989).
 28. W. Freidrich, *Vitamine C*, in : *Vitamines*, pp 929-999, Walter de Gruyter, New York (1988).