

성숙 및 신생마우스에서 아포프토시스를 이용한 방사선 피폭의 생물학적 지표

오 현 · 이송은 · 양정아 · 정규식* · 현병화* · 김성호

전남대학교 수의과대학
생명공학연구소*
(1998년 7월 8일 접수)

Biological indicator on radiation exposure using apoptosis in adult and newborn mice

Heon Oh, Song-eun Lee, Jung-ah Yang, Kyu-shik Jeong*, Byung-hwa Hyun*, Sung-ho Kim

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University
Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology*

(Received July 8, 1998)

Abstract : We have studied, by a nonisotopic *in situ* DNA end-labeling (ISEL) technique, frequency of apoptosis in the external granular layer (EGL) of the cerebellum after whole-body irradiation of newborn mice and intestinal crypt cell of adult mice by gamma-rays from ^{60}Co . The extent of changes following 2 Gy(10.9 Gy/min) was studied at 2, 4, 6, 8, 12, or 24h after exposure. The maximal frequency was found 4~8h after exposure. The mice that received 0.18, 0.36, 0.54, 1.08, 1.98, or 3.96 Gy were examined 6h after irradiation. Measurements performed after irradiation showed a dose-related increase in apoptotic cells in each of the mice studied. The dose-response curves were analyzed by a linear-quadratic model; frequency(%) of apoptotic cell in the newborn mice cerebellum was $(13.49 \pm 1.175)D + (-1.52 \pm 0.334)D^2 + 0.048$ ($r^2 = 0.981$, D = dose in Gy) and frequency(number per crypt) of apoptotic cell in the intestinal crypt of adult mice was $(3.857 \pm 0.420)D + (-0.535 \pm 0.120)D^2 + 0.155$ ($r^2 = 0.952$, D = dose in Gy). It provides the basis required for a better understanding of results which will be obtained in any further studies for biological responses of radiation using newborn and adult mice.

Key words : irradiation, apoptosis, cerebellum, intestine crypt, adult, newborn, mouse.

이 연구는 1997년도 한국학술진흥재단 연구비 지원(1997-001-G00147)에 의해 수행되었음.

Address reprint requests to Dr. Sung-ho Kim, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Puk-ku, Kwangju 500-757, Republic of Korea.

서 론

방사선의 생물학적 효과측정의 조건으로는 피폭량에 따른 반응의 일치(dose-dependence)와 방사선에 대해 특징적인 반응을 보여 효과측정이 용이하여야 하며 피폭후 빠른 결과의 산출, 부분피폭의 검출과 피폭후 피폭효과 지속성, 만성피폭과 분할피폭의 적용성 및 다양한 선질에 대하여 모두 측정 가능하여야 한다. 그러나 현재 위의 조건을 모두 만족시킬 수 있는 지표는 없으나 개인용 계측기를 이용한 물리적 측정방법의 문제점을 보완하기 위하여 생물학적 효과 측정법이 중요시 되고 있다¹.

생물학적 측정의 가장 큰 약점은 저선량의 측정이 용이하지 않다는 점이다. 때문에 100cGy 이하 수준에서도 민감한 반응을 보이고 실험측정이 간편한 생물학적 측정 방법을 마련하는 것이 절실히 요구된다. 이와같은 관점에서 최근 생물학적 연구분야에서 지대한 관심의 대상이 되고 있는 apoptosis는 1970년에 Okada²에 의해 처음 정의된 후 몇몇 연구자에 의해 방사선 조사에 대하여 apoptosis에 감수성 있는 세포형으로 림프구, 흉선세포, 장음세포, 종양세포 및 몇가지 세포주 등이 알려져 있다³. Apoptosis는 생체내 생리학적 조절에 의해 세포가 자연 소멸되는 현상으로 장점막상피나 샘조직세포, 림프기관의 germinal center와 같은 정상조직에서의 세포교체시, 태생기 발생 및 변태과정, 임신분만시 자궁, 유방의 크기, 젖샘세포에서와 같은 내분비 호르몬 작용에 의한 장기의 위축과 비대 및 많은 종양조직에서 관찰할 수 있다. 이는 심한 생리적 또는 화학적 자극에 의해 일어나는 피사와 구별되며 형태학적으로 세포벽의 공포화, 세포질과 핵의 농축 및 apoptotic body가 관찰되고 여러가지 생화학적 변화가 나타난다⁴.

방사선에 의한 apoptosis 유도는 Potten에 의해 소장음세포에서 감수성이 있음이 최초 보고되었으며⁵, 털수질세포, 흉선 및 림프구 등에서의 보고와 이외 몇몇 단편적인 연구⁶⁻⁹가 있으나 생물학적 효과측정의 관점에서의 연구가 요구되며, 외국의 경우 치료방사선과 영역에서 방사선과 apoptosis의 관계가 활발히 연구되고 있으며 최근 방사선에 의한 apoptosis를 조절하는 물질의 효과를 보고하기도 하였다¹⁰.

본 연구에서는 apoptosis 유발정도를 지표로 적용하여 방사선의 생물학적 효과를 형태학적으로 검증하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 생후 7~8주령 및 생후 24시간 이내의 ICR 마우스를 군당 6마리로 하며 성숙마우스는 음수 및 고형 사료를 자유로이 섭취할 수 있게 하고 신생마우스는 모체의 동거시키며 정상 대조군 및 γ 선 조사군으로 하였다.

방사선 조사 : 방사선 조사는 실험용 방사선 조사기 (Gammacell 3000 Elan, Nordion International Co. Canada)를 이용하여 Caesium-137 γ 선을 2Gy 조사하고 조사후 시간 경과(2, 4, 6, 8, 12, 24시간)에 따른 apoptotic cell의 발생 변화를 관찰하고, 최다 생성시간을 산출하여 7단계의 저선량 및 고선량 방사선을 각 1회 전신 조사하였다. 방사선 처리는 소장 음세포실험의 경우, 분열상황과 관련하여 공히 오전 9시에 시행하였다.

조직표본제작 : 방사선 조사후 각 실험군의 마우스를 희생시켜 성숙마우스는 소장(공장)을 적출하고 신생마우스는 소뇌, 신장 및 고환을 적출하여 Carnoy 고정액에 1시간 고정을 한 후 포매시까지 70% ethanol에 보관한다. 파라핀으로 포매한 조직은 3~4 μ m 두께로 절편을 제작하여 hematoxylin-eosin 염색 및 DNA fragments 측정을 위하여 *in situ* apoptosis detection kit(ApopTag, Oncor)를 사용, *in situ* end labelling을 실시하였다^{11,12}. 간단히 기술하면 표본 슬라이드에 terminal deoxynucleotidyl transferase를 가하는 방법으로 DNA fragment(3'-OH ends)에 digoxigenin-nucleotides 잔기를 부착시키고 anti-digoxigenin-peroxidase를 처리한 다음 통상적인 diaminobenzidine(Sigma Chemical Co.) 염색법으로 발색하였다.

검 경 : 성숙마우스 소장은 실험군별 6마리의 마우스로부터 각 40개씩(군별 총240개)의 소장음에서 Paneth 세포를 제외한 4번째 세포까지를 기저부(base)로 하여 apoptotic cell을 기저부와 전체 소장음에서 관찰되는 총수로 구분하여 산출하였다. 측정에 사용된 소장음은 음의 편측 세포수가 17개 이상인 내장이 확연히 나타나고, 정확히 종절된 음만을 선택하여 대물렌즈 100배하의 광학현미경으로 검경하였다. 신생마우스의 각 장기는 현미경 시야의 전체세포당 apoptotic cell의 수를 위와 같은 방법으로 산출하였다.

통계분석 : 각 γ 선 조사선량에 따라 측정된 apoptotic cell 발생의 평균값은 Graph PAD In Plot(GPIP, Graph

PAD software Inc., Sandiego) program을 이용, linear-quadratic model($y = aD + bD^2 + c$)에 적용하여 γ 선 조사군의 선량-반응곡선을 구하며, y 는 성숙마우스의 경우 소장암당 apoptotic cell의 수, 신생마우스의 경우 전체 소뇌과립층 세포중 apoptotic cell의 백분율, D 는 방사선량(Gy)을 나타낸다.

결 과

Apoptotic cell은 방사선을 조사한 성숙마우스의 소장암 및 신생마우스의 소뇌과립층, 신장조직에서 다수 형성되었다. H-E 염색상에서 세포질과 핵염색질의 농축,

Table 1. Apoptosis frequency in crypt of intestine as a function of time after acute exposure to 2 Gy of γ -radiation

Post irradiation time	Apoptotic cell per crypt	
	Base	Total
2hrs	1.642 ± 0.816	1.775 ± 0.888
4hrs	4.717 ± 1.248	5.025 ± 1.215
6hrs	4.682 ± 0.526	5.025 ± 0.531
8hrs	3.017 ± 0.642	3.258 ± 0.759
12hrs	2.275 ± 0.100	2.592 ± 0.270
24hrs	2.108 ± 0.430	2.65 ± 0.439

Mean value of 6 mice per group ± SD.

Table 2. Incidence of cell death by apoptosis in crypt of intestine following γ -irradiation

Dose (cGy)	Apoptotic cell per crypt	
	Base	Total
0	0.092 ± 0.026	0.155 ± 0.054
18	1.313 ± 0.120	1.475 ± 0.167
36	1.723 ± 0.221	2.105 ± 0.330
54	2.167 ± 0.830	2.293 ± 0.865
108	3.733 ± 0.439	4.125 ± 0.467
198	4.565 ± 0.489	4.935 ± 0.311
396	6.3 ± 0.945	7.192 ± 0.799

Mean value of 6 mice per group ± SD.

핵파편 및 특징적인 세포질의 산호성을 나타냈으며, ISEL 염색에서 양성세포로 관찰되었다.

성숙마우스의 소장 암세포에서 대부분의 apoptosis는 기저부에 형성되었으며(Fig 1, 2), 4~6시간에 최고치를 나타낸 후 8시간부터 감소하였다(Table 1). 방사선 조사 후 6시간에 선량별 발생은 조사용량에 따라 증가되었다(Table 2).

신생마우스의 소뇌 과립층 세포에서의 발생율은 정상 대조군의 경우 0.048%의 낮은 수치를 보였으며 방사선 조사후 6~8시간에 최고치를 나타냈다(Table 3, Fig 3, 4). 표준편차가 적은 방사선 조사후 6시간에서의 조사선량별 발생율은 Table 4와 같이 증가하였다.

Linear-quadratic model에 적용하면 용량-반응의 곡선식은 성숙마우스의 소장암의 경우, $y = (3.857 \pm 0.420)D + (-0.535 \pm 0.120)D^2 + 0.155$ (y = 소장암 개당 apoptotic cell의

Table 3. Apoptosis frequency in external granular layer of cerebellum as a function of time after acute exposure to 2 Gy of γ -radiation

Post irradiation time	Apoptosis(%)
2hrs	0.108 ± 0.149
4hrs	7.323 ± 1.969
6hrs	23.675 ± 2.079
8hrs	37.318 ± 12.259
12hrs	21.6 ± 3.784
24hrs	7.638 ± 2.305

Mean value of 6 newborn mice per group ± SD.

Table 4. Incidence of cell death by apoptosis in external granular layer of cerebellum following γ -irradiation

Dose(cGy)	Apoptosis(%)
0	0.048 ± 0.088
18	4.547 ± 0.964
36	6.026 ± 1.560
54	7.148 ± 0.626
108	10.474 ± 1.255
198	21.743 ± 2.507
396	29.521 ± 4.803

Mean value of 6 newborn mice per group ± SD.

수, $r^2 = 0.952$, $D =$ 방사선량 Gy)였으며 신생마우스 소뇌 과립층 세포의 경우, $y = (13.49 \pm 1.175)D + (-1.522 \pm 0.334)D^2 + 0.0477$ ($y =$ 전체 소뇌 과립층 세포중 apoptotic cell의 백분율, $r^2 = 0.981$, $D =$ 방사선량 Gy)이었다.

신생마우스 신장의 apoptotic cell의 발생은 현미경 소견상 균일한 분포를 나타내지 않았으며 고환의 지지세포의 경우 apoptosis가 관찰되지 않았다.

고 찰

방사선의 생물학적 효과측정은 직업적, 질병치료에 따라 또는 불의의 사고에 의한 방사선 피폭의 경우 가장 기본적으로 요구되는 사항이다. 대부분의 경우 방사선의 선량측정은 개인용 계측기를 사용한 물리적 측정이 주로 이루어진다. 그러나 이와같은 측정방법은 계측기 자체에 대한 방사선 조사의 측정일뿐 작업종사자 또는 피폭자가 받은 방사선량의 표시는 아니며 선량측정에 많은 한계가 있다. 따라서 이와같은 단점을 극복할 수 있는 방법은 피폭개체 자체에 대한 생물학적 효과측정이며, 피폭시 물리적 계측기가 없는 경우 또는 부분피폭의 상태에서는 생물학적 효과측정의 중요성은 한층 더 강조된다.^{1,13,14}

생체에서 시행할 수 있는 생물학적 선량측정의 방법으로는 분자수준, 세포유전학적 수준 그리고 세포수준의 변화 등 3가지로 크게 나눌 수 있다. 그러나 분자수준에서의 변화는 계측기 설비에 대한 비용문제와 아직 정확한 연구가 필요한 실정이며 세포유전학적 수준에서의 선량측정은 염색체 분석법¹⁵⁻¹⁸, 미소핵 분석법^{19,20}, 체모^{21,22} 등이 이용되는데 고선량 조사시 임계량을 초과하는 경우 측정이 불가능해지며 시간경과에 따른 측정량의 변화 및 체모의 경우 직접 사람에게 적용을 할 수 없는 등의 단점이 있다. 또한 조혈이나 정자발생을 이용한 세포수준에서의 변화는 방사선에 민감도가 낮다¹.

한편 인체를 포함하여 신생동물에 대한 방사선 장애의 측정방법은 거의 없는 실정이다. 임신동물을 사용한 최기형성 시험을 비롯한 생식시험은 배자기, 착상기, 장기형성기 등에서의 장애를 관찰하는 것으로 임신말기 태아 및 신생자에 대한 방사선의 영향 특히 급성효과 및 저선량방사선의 효과를 판별할 수 있는 생물학적 방법의 도출이 절실하다.

Apoptosis에 의한 세포사는 방사선 장애의 급성효과와

결과로서 인식되고 있으며 특히 증식성이 강한 세포에서 쉽게 나타난다. 소장 음세포는 성숙개체에서 12시간의 세포주기로 가장 빠르게 증식하는 세포이다. 각 음은 약 250개의 세포로 구성되며 이중 약 150개가 세포증식주기에 포함되어 있다. 원줄기세포는 음의 기저부에 존재하며 분열하지 않는 세포인 Paneth 세포의 위에 주로 위치한다²³. 복강에서 위장관 계통의 위치적 관계로 암의 방사선 치료시 주요 부위이며²⁴, 정상세포의 손상으로 인한 장사(intestinal death)가 방사선 장애와 관련하여 중요하다. 신생개체에서는 소뇌 과립층 세포²⁵ 및 신장에서 방사선에 의한 apoptosis의 발생²⁶이 단편적으로 보고되고 있으며 고환 지지세포에서의 apoptosis 발생은 랫트에서 보고²⁷된 바 있다.

본 연구에서 성숙마우스의 소장 음세포 및 신생마우스의 소뇌 과립층 세포에서 apoptosis는 방사선 조사에 의해 증가되었으며 최고 발생시간은 소장음의 경우 방사선 조사후 4~6시간, 소뇌의 경우 6~8시간으로 기존의 보고^{8,28-31}와 유사하였고 조사선량에 비례하여 증가하였다. 신생마우스의 신장의 경우 방사선 조사에 의해 증가하였으나 발생세포의 위치가 균일하지 않아 효과판별을 위한 형태학적 측정지표로는 부적절하다고 사료되며 고환의 지지세포에서는 전혀 발생되지 않았고 이는 마우스에서 지지세포의 발달이 랫트와 시간적 차이가 있어 기존의 랫트를 사용한 보고²⁷와 불일치하는 것으로 생각된다.

본 연구의 결과 100cGy 이하의 저선량에서도 높은 민감도로 apoptosis가 유도되었으며 선량-반응식을 적용한다면 성숙마우스 및 신생마우스 또는 마우스 태자에 대한 저선량방사선의 효과 및 조절물질의 효과판별 등에 생물학적 지표로 적용 가능할 것으로 사료된다.

결 론

방사선생물학분야 연구에 새로운 실험기준으로 적용하고 추후 방사선의 오염도 측정, 방호제 개발 및 효과 검증 등에 지표로 사용하기 위하여 성숙마우스의 소장 음세포 및 신생마우스의 소뇌, 신장, 고환조직에서 방사선에 의해 유도되는 apoptosis의 발생양상을 관찰하였다. 생후 24시간이내의 ICR 마우스에 2Gy의 γ 선을 1회 전신 조사한 후 시간별 apoptotic cell의 유도변화를 파악하고 7단계의 용량별 발생분포를 H & E 및 *in situ end la-*

belling 염색후 광학현미경으로 측정하였다. 신생마우스 소뇌 과립층 세포에서 방사선 조사후 apoptotic cell 발생은 6~8시간에 최고치를 나타냈으며 12시간부터 감소하였다. 방사선조사 용량별 apoptotic cell 유도에 대한 용량-반응식은 백분율 기준으로 $y = (13.49 \pm 1.175)D + (-1.522 \pm 0.334)D^2 + 0.0477(r^2 = 0.981, D = \text{방사선량 Gy})$ 이었으며 성숙마우스 소장 움세포에서의 apoptosis 발생은 방사선 조사후 4~6시간에 최고치를 나타냈고 용량-반응식은 움당 양성세포수로써 $y = (3.857 \pm 0.420)D + (-0.535 \pm 0.120)D^2 + 0.155(r^2 = 0.952, D = \text{방사선량 Gy})$ 였다.

이상의 결과에서 1Gy 이하의 저선량에서도 높은 발생

율을 나타내어 저선량방사선의 효과측정에 중요한 자료가 될 것이다. 신생마우스 신장의 apoptotic cell의 발생은 현미경 소견상 균일한 분포를 나타내지 않았으며 고환의 지지세포의 경우 발생단계의 시간적 경과로 apoptosis가 일어나지 않아 생물학적 지표로서의 사용은 부적합한 것으로 사료되었다. 본 연구의 결과는 apoptosis를 이용한 방사선 피폭의 생물학적 지표로서 성숙마우스 및 임신말기 태아와 신생자에 대한 방사선의 급성효과를 파악할 수 있는 기준이 될 것이며 방사선의 생물학적 효과측정에 자료로 사용될 수 있을 것이다.

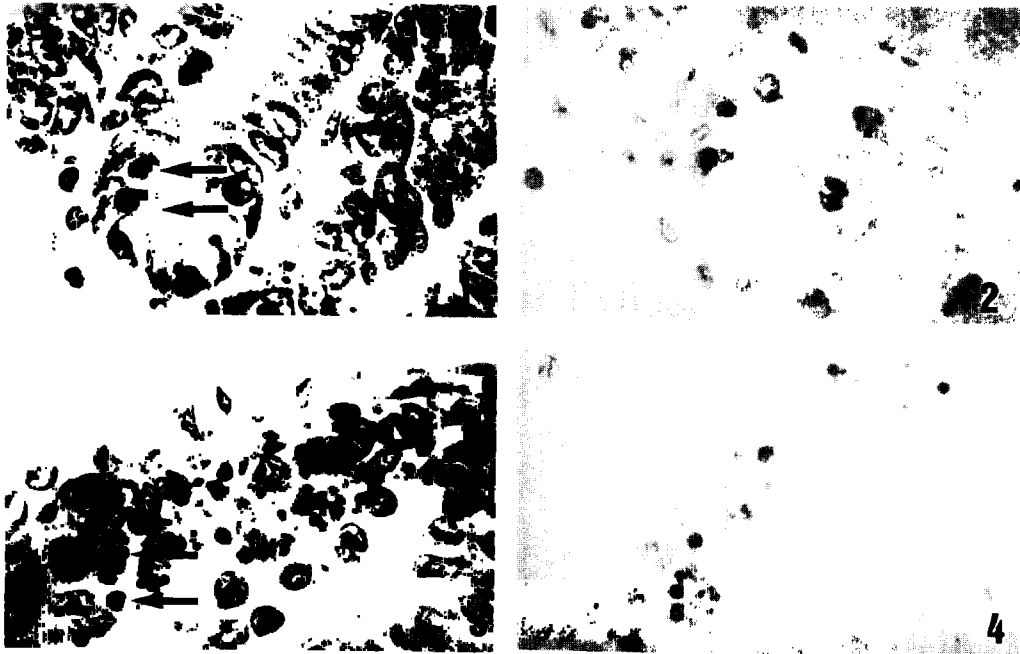
Legends for figures

Fig 1. Intestinal crypts of mice 6 hours after exposure to 2 Gy γ -radiation. Cells exhibiting pyknosis of nuclei (arrows) are seen. H-E staining, X 330.

Fig 2. *In situ* end labelling (ISEL) demonstrating numerous apoptotic nuclei and bodies in the crypt. ISEL, chromogen diaminobenzidine, hematoxylin counterstaining, X 330.

Fig 3. External granular layer of neonatal mouse cerebellum 6 hours after exposure to 2 Gy γ -radiation. Cells exhibiting pyknosis of nuclei (arrows) are seen. H-E staining, X 330.

Fig 4. *In situ* end labelling (ISEL) demonstrating numerous apoptotic nuclei and bodies in the EGL. ISEL, chromogen diaminobenzidine, hematoxylin counterstaining, X 330.



참 고 문 헌

1. Müller WU, Streffer C. Biological indicators for radiation damage. *Int J Radiat Biol*, 59:836-873, 1991.
2. Okada S. Radiation-induced cell death. *Radiation Biochemistry*, Vol. 1, Edited by: Altman KI, Gerber GG and Okada S(New York, Academic):247-307, 1970.
3. Szumiel I. Review: Ionizing radiation-induced cell death. *Int J Radiat Biol*, 66:329-341, 1991.
4. Hale AJ, Smith CA, Sutherland LC, et al. Review, Apoptosis : molecular regulation of cell death. *Eur J Biochem*, 236:1-26, 1996.
5. Potten CS, Chwalinski S, Swindell R, et al. The spatial organization of the hierarchical proliferative cells of the crypts of the small intestine into clusters of 'synchronized' cells. *Cell Tissue Kinet*, 15:351-370, 1982.
6. Mori N, Okumoto M, Morimoto J, et al. Genetic analysis of susceptibility to radiation-induced apoptosis of thymocytes in mice. *Int J Radiat Biol*, 62:153-159, 1992.
7. Cohen JJ. Programmed cell death in the immune system. *Adv Immunol*, 50:55-85, 1991.
8. Inouye M, Tamaru M, Kameyama Y. Effects of cycloheximide and actinomycin D on radiation-induced apoptotic cell death in the developing mouse cerebellum. *Int J Radiat Biol*, 61:669-674, 1992.
9. Harmon BV, Allan DJ. X-ray-induced cell death by apoptosis in the immature rat cerebellum. *Scan Microsc*, 2:561-568, 1988.
10. Drazi A, Du X, Yang Z, et al. Interleukin-11 prevents apoptosis and accelerates recovery of small intestinal mucosa in mice treated with combined chemotherapy and radiation. *Lab Invest*, 75:33-42, 1996.
11. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death *in situ* via specific labelling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol*, 119:493-501, 1992.
12. Wijsman JH, Jonker RR, Keijzer R, et al. A new method to detect apoptosis in paraffin section: *in situ* end-labeling of fragmented DNA. *J Histochem Cytochem*, 41:7-12, 1993.
13. Stenphan G, Hadnagy W, Hammermaier C, et al. Biologically and physiologically recorded doses after an accidental exposure to ⁶⁰Co gamma-rays. *Health Phys*, 44:409-411, 1983.
14. Lloyd DC. An overview of radiation dosimetry by conventional cytogenetic method. In : Eisert WG and Mendelsohn ML(eds), *Biological Dosemetry*. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, Springer-Verlag, 3-13, 1984.
15. Scott D, Lyons CY. Homogeneous sensitivity of human peripheral blood lymphocytes to radiation-induced chromosome damage. *Nature*, 278(19):756-758, 1979.
16. Klingerman AD, Halperin EC, Erexson GL, et al. The persistence of lymphocytes with dicentric chromosomes following whole-body x-irradiation of mice. *Radiat Res*, 124:22-27, 1990.
17. IAEA technical report series no. 260, Biological dosimetry : Chromosomal aberration analysis for dose assessment. IAEA, Vienna, 1986.
18. 김성호, 김태환, 정인용 등. KCCH cyclotron neutron 및 ⁶⁰Co γ-ray에 의한 인체 말초혈액 임파구의 염색체 이상 측정. 방사선방어학회지, 17:21-30, 1992.
19. Almasy Z, Kerpinsky AB, Bianci A, et al. The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review. *Appl Radiat Isot*, 38:241-249, 1987.
20. Kim SH, Cho CK, Kim TH, et al. Frequency of micronuclei in lymphocytes following gamma and fast-neutron irradiations. *Anticancer Res*, 13:1587-1592, 1993.
21. Geng L, Potten CS. Changes after irradiation in the number of mitotic cells and apoptotic fragments in growing mouse hair follicles and in the width of their hairs. *Radiat Res*, 123:75-81, 1990.
22. Kim TH, Kim SH, Kim JH, et al. Measurement of apoptotic fragments in growing hair follicles following γ-ray irradiation in mice. *Anticancer Res*, 16:189-192, 1996.
23. Potten CS, Merritt A, Hickman J, et al. Characterization of radiation-induced apoptosis in the small in-

- testine and its biological implications. *Int J Radiat Biol*, 65:71-78, 1994.
24. Dewit L, Oussoren Y. Late effects in the mouse small intestine after a clinically relevant multifractionated radiation treatment. *Radiat Res*, 110:372-384, 1987.
25. Harmon BV, Allan DJ. X-ray-induced cell death by apoptosis in the immature rat cerebellum. *Scan Microsc*, 2:561-568, 1988.
26. Gobe GC, Axelsen RA, Harmon BV, *et al*. Cell death by apoptosis following x-irradiation of the foetal and neonatal rat kidney. *Int J Radiat Biol*, 54:567-576, 1988.
27. Allan DJ, Gobe GC, Harmon BV. Sertoli cell death by apoptosis in the immature rat testis following x-irradiation. *Scan Microsc*, 2:503-512, 1988.
28. Ijiri K, Potten CS. Further studies on the response of intestinal crypt cells of different hierarchical status to cytotoxic drugs. *Br J Cancer*, 55:113-123, 1987a.
29. Ijiri K, Potten CS. Cell death in cell hierarchies in adult mammalian tissues. In: *Perspectives on Mammalian Cell Death*. Edited by: Potten CS(Oxford, Oxford University Press), 326-356, 1987b.
30. Potten CS. Extreme sensitivity of some intestinal crypt cells to x and γ -irradiation. *Nature*, 269:518-521, 1977.
31. Fritsch P, Richard LNH, Denis S, *et al*. Kinetics of radiation-induced apoptosis in the cerebellum of 14-day-old rats after acute or during continuous exposure. *Int J Radiat Biol*, 66:111-117, 1994.