

쇠비름 수침액이 방사선 조사에 의한 생쥐의 생존율과 뇨중 아미노산 조성에 미치는 영향

천기정* · 김진규 · 이영근 · 김봉희*

한국원자력연구소, *충남대학교 약학대학

(Received March 8, 1999)

Effect of *Portulaca Oleracea* water Extract on the Changes of Urine Amino acid Contents and Survival Rate by Irradiation in Mice

Ki-Jung Chun[‡], Jin Kyu Kim, Young-Keun Lee and Bong-Hee Kim*

Korea Atomic Energy Research Institute

**College of Pharmacy, Chung Nam National University*

Abstract—A study has been conducted to investigate the radioprotective effects of purslane extracts (P) when i.p. injected before irradiation (R). For studying the amino acid composition, three groups of ICR mice (7-week-old) were tested. The first group i.p. injected with purslane extract for 5 days were irradiated with 6 Gy of γ -radiation (P+R). The second group was irradiated with 6 Gy without any pre-treatment (R). The third group was non-irradiated control (CT). Each group divided into two groups for the survival rate study, one injected with saline (S) and the other injected with purslane extract (P) for five days and then irradiated with 8 Gy. The amino acid composition of urine samples were analyzed with HPLC for 19 days after irradiation. A few kinds of amino acids such as lysine and methionine in urine from P+R group increased in comparison with those from CT or R group. The survival rate of P group maintained much higher than that of S group during experimental period. The results obtained may support that this plant has radioprotective substances by means of life-lengthening, not of urine amino acid components.

Keywords □ Purslane, radioprotective effect, urine amino acid, survival.

방사선 피폭에 의한 생물학적 반응은 급성 및 만성반응으로 나타날 수 있다. 급성 외부 피폭의 경우 조류는 포유동물보다 방사선에 저항성이 있으며, 양서류 및 파충류는 조류보다 저항성이 약간 강하거나 거의 유사하며, 무척추동물의 경우는 척추동물보다 저항성이 훨씬 강한 것으로 나타나고 있다.^{1,2)} 이와 같이 여러 종류의 생물체에 따라 현저한 방사선 저항성을 나타내고 있으나 포유동물인 인간은 비교적 방사선에 약한 것으로 알려져 있다.

방사선 장애 예방약으로 잘 알려진 WR-2721은 대표

적인 아미노치올 유도체로 종양 주변에 국부적으로 투여하면 전신적 독성을 피하면서 방사선 치료법에서 수반되는 방사선 장애를 경감할 수 있을 가능성과 불의의 사고에 의해 방사선 작업자가 피폭되는 경우 항생물질이나 진정제, 비타민제, 외상화상등 대중적인 치료법을 사용하는 외에 콜로니형성 자극인자(CSF)등 세포성장인자를 투여하던가 조혈조직에 대표되는 재생계의 회복을 촉진하는 본질적 치료법에 대한 가능성이 1980년대에 고려되어 졌다. 그 후 1986년 체르노빌 원자력 발전소 사고가 발생하여 방사선 방어약제에 대한 관심이 재차 강조되었으며 여러 가지 치료법이 진보함에 따라 암환자의 수명을 연장하기 위해서 방사선요법에 관해서도 장애의 경감화와 2차 발암 방지 문제 같은 것에 관

[‡] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-868-8034 (팩스) 042-862-5496

심이 집중되면서 방사선 방어제에 대한 연구와 관심이 날로 증가일로에 있다.³⁾

오늘날 암환자에 대한 치료가 항암제와 함께 방사선 조사에 의한 방사선치료를 주로 이용하고 있다. 이러한 방사선 조사는 암조직 이외에 정상조직에도 상당한 손상을 초래하여 방사선 치료를 받는 암환자의 대부분은 암에 의한 사망보다도 치료 과정에서 방사선 피폭에 의한 부작용으로 예를 들면 혈액세포생성에 관여하는 골수 세포의 이상 등으로 사망하는 경우가 많은 것이 오늘날의 실정이다. 이러한 문제를 해결하기 위해서는 방사선 외부 및 내부피폭에 방어할 수 있는 방어제중 지구상에 존재하는 천연자원으로부터의 방사선 방어력에 대한 관심이 높아지고 있다. 따라서 최근 생약과 같은 자연산 생물에 의한 방사선 생체반응 변화 및 단일 생약제 또는 당제를 비롯한 복합처방제 등에 대한 방사선 방어효과에 대한 관찰이 연구관심의 대상이 되고 있다.

따라서 본 연구는 단일 생약제중 쇠비름을 이용하여 방사선 방어효과를 관찰하기 위하여 생쥐를 방사선 조사하기 전에 쇠비름 수침액을 5일간 투여한 후 방사선을 전신 조사하여 조사후 시간에 따라 배설되는 뇨성분 중 아미노산 성분을 분석하여 방사선조사군 이외의 것과 비교 검토하고 수명 등을 관찰하였다.

실험 방법

시료 추출 - 경작지로부터 잘자란 쇠비름(*Portulaca oleracea*) 식물체를 채취하여 물에 잘 세척한 다음체에 반혀 물기를 제거한 후 실험에 사용하였다. 이것을 환류냉각기를 장치하여 수욕상에서 5% 에탄올로 3시간씩 3회 추출한 후 온시 여과하고 여액을 모아 에탄올 추출물을 얻었으며 이 액을 증류수로 5배 희석하고 멸균된 membrane filter로 멸균하여 시료로 사용하였다.

뇨중 아미노산 측정 실험 - 7주의 ICR계 웅성 마우스를 한국 화학연구소로부터 구입하여 사용하였으며 정상군, 방사선조사군 및 시료투여군으로 나누었으며 한 실험군당 5마리씩을 사용하였다. 방사선 조사군은 한국 원자력 연구소 소재 10,000Ci 코발트-60 저준위 조사시설에서 6 Gy(선량률 : 1 Gy/min)를 전신조사시켰다. 시료투여군은 방사선 조사하기 이전 멸균된 쇠비름 수침액 시료를 복강에 1 ml씩 하루에 한 번씩 5일간 주사하고 방사선 조사군과 같은 방사선 선량을 조사하였다. 이들 3개의 군은 각군별로 생쥐대사 cage에 5마

리씩 함께 넣어 고형사료와 물을 자유롭게 먹게하면서 정상군을 제외한 두군은 2, 4, 6, 10, 14, 16, 19일째 되는 뇨를 모아서 분석하였다.

생존율 측정 실험 - 수명 연장실험은 정상군과 시료투여군으로 나누어 한 실험군당 8마리를 사용하였다. 정상군은 saline을, 시료투여군은 방사선 조사하기 이전 멸균된 쇠비름 수침액을 복강에 1 ml씩 하루에 한 번씩 5일간 주사하고 8 Gy(선량률 1 Gy/min)를 전신 조사시킨 후 생존일수를 측정하였다.

뇨중 아미노산 분석 - 뇨시료의 아미노산 분석은 HPLC로 수행되었다. 표준품은 2.5 $\mu\text{mol/ml}$ pierce standard를 초순수를 이용, 5배 희석하여 0.5 $\mu\text{mol/ml}$ 로 하였고 시료는 초순수를 이용, 10배 희석 후 0.45 μm filter로 여과하여 표준품 및 시료를 전처리하였다. 표준품과 시료 50 μl 를 sample tube에 각각 취하고 50°C, 65 cmHg 감압오븐에서 1시간 완전 건조시킨 다음 ethanol : H₂O : triethylamine(2:2:1, v/v)용액을 10 μl 씩 넣어 가볍게 흔들어진 후 50°C, 65 cmHg 감압 오븐에서 30분간 다시 완전 건조시킨다. 그리고 ethanol : H₂O : triethylamine : PITC(7:1:1:1, v/v)용액을 10 μl 씩 넣고 가볍게 흔든 후 20분간 실온에서 방치하고 50°C, 65 cmHg 감압오븐에서 30분간 완전 건조시킨다. 이 표준품과 시료에 용해액 100 μl 를 넣어 용해시키고 0.45 μm filter에서 여과한 후 HPLC에 10 μl 를 주입하였다. HPLC의 분석조건은 working column은 cosmosil 5C18 AR column을 사용하였으며 이동상의 비율이 60 : 960 CH₃CN : 0.1N 초산나트륨 완충액 (pH 6.4)인 용액을 사용하였다. Flow rate는 1.0 ml/min의 속도로 하였으며 검출기 파장은 254 nm를 사용하였다.

결과 및 고찰

뇨중 아미노산 조성 - 방사선 피폭후에는 핵산이나 단백질의 상당량이 파괴되어 신장을 통해서 핵산물질, 아미노산 및 대사산물의 배출이 증가하게 된다. 방사선 피폭하기 전에 방사선의 방어효과를 관찰하기 위하여 미리 시료액을 5일간 투여하고 방사선 조사하여 방사선 조사군과 시료투여군에서 시간 경과함에 따라 뇨중의 아미노산을 분석한 결과는 Table I과 같다. Table I에서와 같이 6Gy의 방사선을 전신조사받은 생쥐의 뇨에서 방사선 조사 후 1주일 이내에서 보면 방사선조사군

Table I—Amino acid concentration of urine collected from mice irradiated with 6Gy (R), and pretreated with purslane extract for 5 days and then irradiated with 6Gy (P+R) during 19 days after irradiation

A.A	Control	Concentration of amino acids in mouse urine ($\mu\text{mol/ml}$)													
		Days after irradiation in R group							Days after irradiation in P+R group						
		2	4	6	10	14	16	19	2	4	6	10	14	16	19
ASP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLU	-	2.1	1.5	-	2.6	4.9	3.1	3.0	3.7	4.6	-	-	4.1	2.5	-
SER	-	0.9	0.7	-	1.6	2.1	2.2	1.5	1.3	1.9	-	-	1.7	1.2	-
GLY	-	-	-	2.5	4.4	3.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HIS	1.7	3.7	3.1	0.6	1.8	0.2	3.9	4.7	2.7	3.1	2.4	4.7	5.0	4.3	4.4
ARG	0.5	1.3	1.2	0.7	1.9	2.8	1.9	2.1	1.4	0.8	0.6	-	3.0	1.8	-
THR	1.1	1.1	1.1	1.3	2.1	2.0	1.9	2.4	1.7	-	1.4	1.8	2.6	2.6	1.9
ALA	1.4	3.1	2.6	2.5	2.9	5.0	4.8	4.7	3.5	5.2	3.7	5.1	5.7	5.5	5.3
PRO	0.9	1.0	0.9	1.8	1.5	2.2	1.6	2.2	1.1	0.9	1.2	1.1	1.7	1.8	-
MET	0.8	0.8	1.0	1.1	3.5	1.8	1.5	2.2	2.4	1.5	1.6	1.5	3.6	2.7	2.1
CYS	-	-	-	-	0.8	-	-	0.7	-	-	-	-	-	0.9	-
ILE	-	-	-	-	0.9	1.3	0.7	0.8	-	-	-	-	2.5	3.2	-
LEU	-	1.2	1.0	0.9	1.5	2.8	1.4	1.8	1.6	2.1	1.0	3.6	2.2	1.6	-
PHI	0.9	0.9	0.7	1.3	0.6	1.8	1.4	1.1	1.2	1.4	0.9	1.8	1.7	1.2	-
LSY	0.5	1.2	0.9	0.7	4.5	3.4	1.4	2.9	2.1	2.7	0.9	2.9	1.8	3.1	2.9

- : no detection or less than detection limit.

은 방사선 조사하지 않은 대조군보다 histidine, arginine, alanine 및 lysine의 농도가 다소 증가하는 것을 보였으며 방사선 조사전 시료투여군에서는 방사선조사군과 같이 histidine, arginine, alanine, lysine외에 threonine 및 methionine의 농도가 훨씬 증가함을 나타내고 있다. 이중에서 lysine과 methionine의 농도는 상당히 증가함을 보여주고 있다. 반면 tyrosine의 농도는 대조군보다 농도가 감소함을 보여주고 있다. 대부분의 생물은 방사선 피폭을 받으면 즉시 또는 수분 이내에 손상을 일으키며 방사선량의 정도에 따라서 회복되기도 하고 전혀 회복불능의 상태를 이끌어 사망하게도 한다. 본 실험 결과로는 방사선 조사군보다 시료투여군에서 뇨중의 아미노산 조성 변화를 관찰했을 때 시료투여군에서 많은 종류의 아미노산 농도가 증가함을 보여주고 있어 시료투여군에서의 방사선 피폭에 의한 방어효과를 감지할 수 없었다.

흰쥐에 0.5~2.5Gy로 전신 조사한 후 24시간 이내에 뇨에서 deoxycytidine이 평소에는 낮은 농도이었으나 방사선 피폭 후에 관찰이 용이하며 이러한 현상은 방사선 치료 환자의 경우에서도 나타나고 있다. 방사선 피폭 후 24시간 이내에 사람이나 동물의 뇨에서 아미노산의 준위가 증가하는 것은 일반적인 현상이며 방사선 피폭 후 일부 아미노산이나 그의 대사산물의 경우 방사선 선량 의존성 변화를 보여주고 있는데 그 중에 하나가 cysteine 대사의 최종산물인 taurine임을 보고하고 있

다. 흰쥐나 생쥐의 경우 0.75~2.5 Gy 방사선 조사후 1~2일 지난 다음 뇨중에서 taurine의 배설이 증가되고 있으며 사람의 경우에도 사고에 의해 방사선 피폭 후 뇨에서 taurine의 양이 증가하고 있음을 보고하고 있다.⁴⁾ 이와 같이 방사선의 피폭에 의한 생물학적 손상을 뇨중의 아미노산 분석으로 다소 감지할 수 있으나 본 실험에서는 방사선조사 후 19일 까지 몇일 간격으로 뇨를 모아 분석한 결과 시간경과에 따른 증감이 확인하지는 않았으나 1주일 이내에서의 실험군에서의 아미노산 분석결과를 관찰해 볼 때 훨씬 많은 종류의 아미노산의 농도가 증가됨을 보여주고 있다.

생존율 - 방사선 방어효과와 일환으로 방사선조사 전에 5일간 쇠비름 수침액을 하루에 한 번씩 복강주사한 후 생쥐의 LD₅₀₍₃₀₎ 선량인 8Gy를 전신조사하여 시일 경과에 따라 생존하는 생쥐수를 관찰하여 본 결과는 Table II와 같다. Table II에서와 같이 각 실험군당 8마리로 하여 조사해 본 결과 방사선 조사군은 31일째 되는 날 4마리 생존하고 32일째 1마리 생존하고 41일째에는 1마리 생존한 반면 시료 투여군은 31일째 되는 날 8마리 모두 생존하고 32일째에도 모두 생존하였으며 41일째 되는 날에 6마리가 생존함을 보여주었다. 쇠비름에는 dopamine과 noradrenaline 성분이 함유되어 있는 것으로 보고되어 있다.⁵⁾ 이러한 함유 성분들은 동물의 방사선에 대한 영향을 변화시킬 수 있는 가능성을 내포하고 있을 뿐 아니라 아직까지 알려지지 않은 여러

Table II— Survival rate of mice injected with saline or purslane extract for 5 days and then irradiated with 8 Gy

Experimental group	Survival rate of mice after irradiation (%)						
	3 days	10 days	20 days	30 days	31 days	32 days	41 days
Injected with saline and irradiated (S)	100	100	100	100	50	12.5	12.5
Injected with purslane and irradiated (P)	100	100	100	100	100	100	75.0

가지 성분들이 쇠비름 추출물에 포함되어 있을 것으로 생각한다. 예비실험 수행과정에서 쇠비름 수침액을 복강주사한 13마리의 실험동물중 약 40%에 상응하는 5마리가 사망함으로써 쇠비름이 생물학적 독성을 가진 물질을 함유하고 있을 가능성을 강하게 시사하였다. 그러나 이에 대해서는 향후 추가 실험이 필요할 것으로 본다. 본 연구의 결과로부터 쇠비름 수침액을 생쥐에 5일간 주사했을 때 그 독성을 극복하고 살아남은 생쥐에서는 방사선 조사에 따른 방사선 방어효과를 인지할 수 있으므로 앞으로는 동물체가 극복 가능한 쇠비름 생체 독성의 한계에 대한 연구와 동시에 처리농도별 방사선 방어효과를 분석하는 연구가 병행되어야 할 것으로 사료된다.

일반적으로 방사선 방어효과는 생물학적으로 여러 세포의 증감 등이 주종을 이루나 최종적으로는 생존동물의 비율의 평가 및 연구선량 범위에서 조사체의 실험군과 대조군에서의 생존율이 방사선 방어효과의 양적인 평가를 위한 새로운 기준을 제안하기도 하였다.⁶⁾ 본 연구 결과로 볼 때 시료투여군에서 방사선 조사군보다 훨씬 수명이 연장됨을 알 수 있으므로 노중의 아미노산 분석실험에서 시료투여군의 방사선 방어효과를 인지하지 못하였으나 수명연장 실험에서는 다소 증가함을 보이므로 시료의 방사선 방어력이 잠재되어 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 생물체의 방사선 방어력에 관한 실험을 다른 각도에서 다각적으로 수행하여 방사선 방어력을 입증할 필요성이 있으며 실험동물을 통한 지속적인 연구가 수행되어야 한다고 사료된다.

결 론

천연 생약제의 방사선 방어제 개발의 일환으로 쇠비름 수침액을 이용하여 방사선 방어효과를 노중 아미노산 성분변화와 생쥐의 생존률에 대해 관찰한 결과, 노중 아미노산 성분에서는 특히 lysine 및 methionine에서

방사선 조사군보다 증가하고 있으며 정상군보다 아미노산의 양적 증가가 인지되어 노시료로서는 방사선 방어효과를 알 수 없었으나 방사선 조사에 의한 생쥐의 생존률이 훨씬 증가함을 보여주고 있어 쇠비름에 방사선 방어물질이 잠재되어 있음을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었습니다.

문 헌

- 1) Gillette, E. L., Hopwood, M. L., Carlson, W. D., Gassner, F. X. : The effect of testicular X-irradiation on bull semen. Effect of ionizing radiation on the reproductive system. *Pergamon Press*. Oxford and New York. 269 (1964).
- 2) Rugh, R. and Wolff, J. : Threshold X-irradiation sterilization of the ovary. *Fertil. Steril.* **8**, 428 (1957).
- 3) Mikio Shikita. : Recent trend in the study of radioprotective substances. *일본원자력학회지*. **35**, 688 (1993).
- 4) Kay, R. E., Early, J. C., and Entenman, C. : Increased urinary excretion of taurine and urea after irradiation. *Radiat. Res.* **6**, 98 (1957).
- 5) Song, J. T. : *Dictionary of Botany*, Korea Central Committee on Book Publication. pp.1582 (1993).
- 6) Boiko, V. N., Aholus, R. B., Legeza, V. I. : A new method for the comparative quantitative assessment of a radiomodifying effect. *Radiat. Biol. Radioecol.* **37**, 35 (1997).