

방사선 조사후 손상된 백서 폐조직에서의 Thioredoxin Peroxidase의 발현

아주대학교 의과대학 호흡기내과학교실, 치료방사선과학교실*, 연세대학교 의과대학 내과학교실**

정성철, 박준성, 박지원, 이선민, 박광주, 황성철,
이이형, 한명호, 오영택*, 김형중**

= Abstract =

Thioredoxin Peroxidase Manifestation in Radiation-Induced White Rat Lung Tissues

Seong Cheoll Cheong, M.D., Joon Seong Park, M.D., Jee Won Park, M.D.,
Sun Min Lee, M.D., Kwang Joo Park, M.D., Sung Chul Hwang, M.D.,
Yi Hyeong Lee, M.D., Myung Ho Hahn, M.D., Young Taek Oh, M.D.*,
Hyung Joong Kim, M.D.**

Department of Pulmonary and Critical Care Medicine,

Department of Radiation Oncology, College of Medicine, Ajou University, Suwon, Korea,*

*Department of Internal Medicine, College of Medicine, Yonsei University**, Seoul, Korea*

Background/Aims : It is well recognized that all aerobic cells have the protective mechanisms in order to minimize the tissue damage induced by various reactive oxygen species(ROS). Thioredoxin peroxidase(TPX) which has been recently identified and characterized functions to convert peroxide to water. The protein is also found in various subtypes(TPX-A & B, MER5, HS22 and HORF-06) and is known to be ubiquitous in most human cells. Especially, ischemic brain injuries, partial hepatectomy and radiation induced DNA damages.

In treating lung cancer, radiation therapy has a major place in the local control and the relief of symptoms, but radiation induced free radical injury and resulting pulmonary fibrosis has been the major drawback of the therapy. However, little is known about the protective mechanisms and biologic modulations against radiation-

Address for correspondence :

Sung Chul Hwang, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Ajou University.

San 5, Wonchon-dong, Paldal-gu, Suwon, 442-721, Korea.

Phone : 0331-219-5123 Fax : 0331-219-5124 E-mail : schwang@madang.ajou.ac.kr

induced tissue damages.

Methods : Eighteen mice were divided into six groups, 3 in each group, and fifteen had received 900cGy of radiation. The mice were sacrificed according to the pre determined time schedule; immediate, 1, 2, 3 and 6 weeks after irradiation. Extracts were made from the lungs of each mice, Western blot analysis of various subtypes of TPX were done after SDS-PAGE. Examination of H & E stained slides from the same irradiated specimens and the control specimens were also performed.

Results : No difference in the intensity of the immunoreactive bands in the irradiated lung samples of the mice compared to the unirradiated control was observed regardless of the time intervals, although H & E examination of the sample specimens demonstrated progressive fibrotic changes of the irradiated lung samples.

Conclusion : In conclusion, according to our data, it is suggested that various thioredoxin peroxidase subtypes and catalase which are known to be increased in many repair processes may not be involved in the repair of the radiation injury to the lung and subsequent fibrosis. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1999, 47 : 650-659)

Key words : Reactive oxygen species, Thioredoxin peroxidase, Radiation injury, Lungs.

서 론

산소를 이용하는 모든 세포들은 reactive oxygen species(ROS : $O_2^- \cdot$, H_2O_2 , $OH \cdot$)에 의한 세포손상으로부터 자신을 보호하기 위하여 ROS를 제거하기 위한 기전을 가지고 있다. ROS는 세포의 호흡과정 (cell respiration)중이나 빛, 방사선, 산화-환원 약제 및 탐식구의 활성화 등으로 인해 생성되며 단백질 및 지질의 산화, DNA의 변형(modification) 및 변이(mutation)를 초래하여 세포 손상에 아주 중요하게 작용한다^{1,2}.

효모의 glutamine synthetase는 thiol-oxidation system(dithiotreitol, Fe^{3+} , oxygen)으로부터 유리되는 ROS에 의하여 불활성화 되며, 이와같이 불활성화 되는 것에 대해 방어작용으로 하는 25kDa의 단백질 효모에 존재함을 알게 되었고, 이를 분리 정제하여 TSA(thiol specific antioxidant, 또는 protector protein)로 명명하였으며, 이러한 방어효과는 non-thiol reductants에 의한 glutamine synthetase의 보호에는 무력한 것으로 잘못 알려진 바 있다³. 특히 ascorbate oxidation system에서의 TSA는 유리되는 ROS의 작용을 방어할 때 thioredoxin system

(NADPH, thioredoxin reductase, thioredoxin)으로부터 전자를 받아 과산화물(peroxide)을 물로 환원시키는 생화학적 성질을 가져 thioredoxin peroxidase(TPX)로 다시 명명 하였다^{4,5}.

TPX는 효모뿐 아니라 포유류의 세포에서도 광범위하게 발견되는데 백서에서 산화 스트레스에 의해 복강 대식세포에서 유도되는 MSP23⁶(murine stress-inducible protein23), erythroleukemic 세포에서 주로 발견되는 MER5⁷(antioxidant protein 1) 및 인체의 상피세포에서 분리되는 PAG⁸(proliferation association gene), 만성 골수성 백혈병 세포(K-562)의 natural killer cell enhancing factor A & B (TPX-A & B)⁹, T-림프구에서 발견되는 AOE372 (anti oxidant enzyme)와 급성 골수성 백혈병 세포(KG-1)의 HORF-06(human open frame)등이 그것이다.

포유류 계에 존재하는 TPX-A & B와 MER5의 재조합 단백질(recombinant protein) 역시 thioredoxin dependent peroxidase활성도를 보였으며¹⁰, 생물학적으로는 산화 스트레스 등에 의해 유도되는 유전자 혹은 단백질로 알려져 있다. 특히 중앙 질환에 있어서 ROS와 항산화 방어기전에 관한 연구는 ROS

의 발생증가와 황산화 방어기전의 감소가 종양 성장의 촉진(cancer promotion) 및 종양질환의 전이(metastasis)에 작용한다는 보고¹²가 있다.

폐암의 치료에 있어서 방사선치료는 폐암의 국소적 치료 및 증상 경감을 위해 중요한 위치를 차지하고 있다. 하지만 폐의 방사선 치료에 있어서 가장 중요한 장애요인은 치료후 발생하는 폐실질의 섬유화로서 방사선 조사후의 유리 산소기(free radical)손상 등에 의한 것으로 알려져 있으며, PDGF(platelet driven growth factor), TGF- β (transforming growth factor)등이 관여하는 것으로 알려져 있으나, 방사선 조사후 발생하는 free radical 손상에 대한 폐세포 내의 방어기전에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

이에 백서 전신에 방사선을 조사하였고, 그 이후 시기별로 폐장 조직내의 thioredoxin peroxidase 각각의 아형과 catalase의 발현을 SDS-PAGE 전기영동, Western blotting 및 H&E 염색으로 정상 폐장 조직과 비교 연구 하였다.

대상 및 방법

1. 대상선정 및 조직의 확보

15마리의 백서 전신에 900cGy의 방사선을 조사하고 직후, 1주후, 2주후, 3주후 및 6주후에 백서를 희생시켜 폐장조직을 추출하였고, 곧 액화질소를 이용하여 -70°C로 보관하였다. 일부조직은 포르말린으로 고정하고 파라핀으로 포매(embedding)하여 H & E(hematoxylin & eosin)염색을 하였고, 신선냉동조직은 각각 1g씩으로 나누어 10mM Tris(pH 7.4), 1% Trito X-100, 1mM EGTA, 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF), 1mM dithiothreitol (DTT), 2 μ g/ml leupeptin, 2 μ g/ml aprotinin, calpain inhibitor I and II(각각 4 μ g/ml)가 들어 있는 조직파쇄용 완충액(homogenization buffer)으로 분쇄후, glass homogenizer의 motor-driven teflon pestle등을 이용하여 충분히 파쇄하였고, 세포막

을 녹이기 위하여 균등질(homogenate)을 4°C에서 2시간동안 흔들어 주어 단백질을 추출하였고, 10,000 rpm으로 30분간 원심부리 하여 상층액을 취하였다. 추출된 표본은 BCA(Bicinchoninic Acid)단백정량 시약을 이용하여 단백 정량 하였다.

2. 면역흡수 분석(Immunoblot analysis)

상기방법으로 얻은 각표본 단백질을 2 X Laemmli's sample buffer와 혼합하여 90°C에서 3분간 열처리 한 후 각 lane 당 70 μ g을 넣고 10% SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-poly acrylamide gel electrophoresis)를 시행하였다. 전기영동 후 nitrocellulose membrane에 이동시켜 2% BSA(bovine serum albumin)로 30분 정도 차단한 후 1차 항체로 각각의 아형에 대한 항체(polyclonal antibody)를 이용, 밤새 처리한 후 3차례 이상 TTBS(Tween tris buffer solution)용액으로 세척하였고, alka-line phosphatase conjugated goat anti-rabbit IgG(Kirkegaard and Perry Laboratories, Inc., Gaithersburg, MD)를 2차 항체로 하여 면역반응대(immunoreactive band)의 발색을 관찰하였다.

3. 조직병리

포르말린으로 고정하고 파라핀으로 포매(embedding)한 조직은 H & E(hematoxylin & eosin)염색을 하여 방사선 조사후 시기별로 폐장조직의 섬유화 정도를 저배율($\times 30$)로 관찰하였다.

결 과

방사선 조사후 시기별로 H & E 염색을 통하여 백서의 폐조직에서 섬유화 과정을 관찰할 수 있었고(Fig. 1), 정상 폐조직에서도 TPX-A, TPX-B, MER5, HORF-06 및 HS22 등 아형의 thioredoxin peroxidase 및 catalase는 발현됨을 알 수 있었다(Fig. 2).

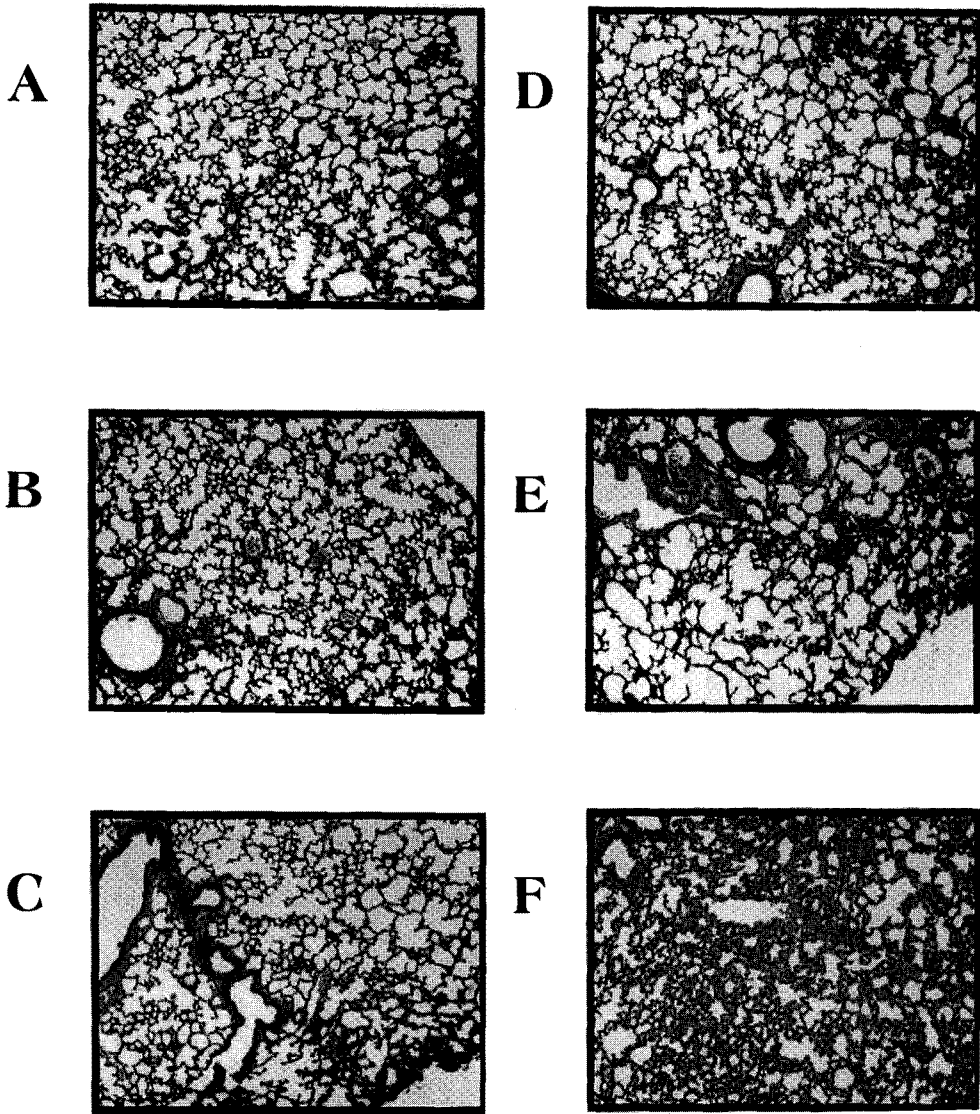


Fig. 1. Control (A) and radiation induced fibrosis in white rat lung tissues (B-immediata, C-after 1 week, D-after 2 week, E-after 3 week, F-after 6 week) (H & E staining $\times 30$)

그러나 TPX-A, TPX-B, MER5, HORF-06 및 HS22 등 아형의 thioredoxin peroxidase의 발현은 방사선 조사전과 방사선 조사 각각 1, 2, 3, 6주후의 폐조직에서 그 발현 양상에 있어서 차이가 없었으며, catalase의 발현 역시 방사선 조사전과 후의 차이를

보이지 않았다(Fig. 2).

고 찰

Reactive oxygen species(ROS)는 세포의 대사와

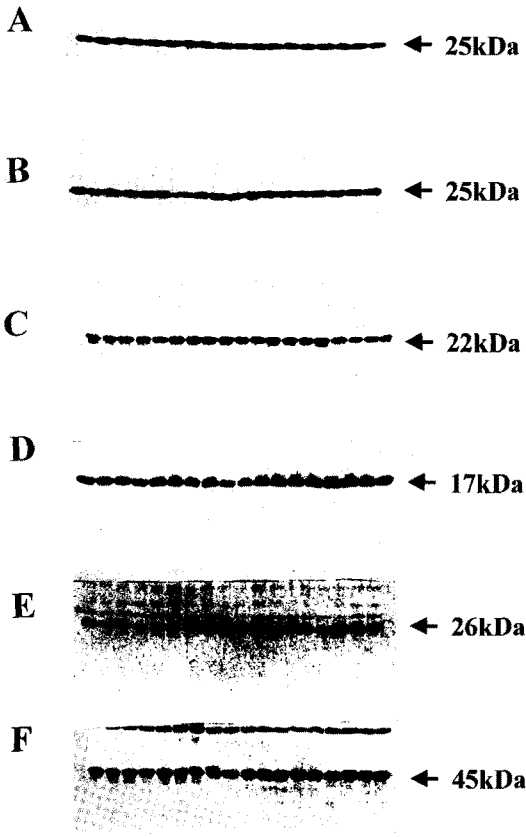


Fig. 2. Western blotting analysis of Control and irradiated Theoredoxin peroxidase (TPX) subtype (A : TPX-A, B : TPX-B, C : MER5, D : HS22, E : HORF-06, F : Catalase) in White Rat Lung tissues. (lane 1-3 Control, lane 4-6 immediate, lane 7-9 after 1 week, lane 10-12 after 2 week, lane 13-15 after 3 week, lane 16-18 after 6 week)

정에서 발생하는 산소를 물로 환원하는 과정에서 불완전 환원에 의해 형성된다. 즉, 산소가 하나의 전자를 받아 superoxide anion($O_2^{\cdot -}$)을 형성하고 2분자의 superoxide anion이 superoxide dismutase의 작용에 의해 H_2O_2 를 형성하며 이렇게 형성된 2분자의 H_2O_2 은 catalase에 의한 dismutation 혹은 glutathione과 같은 물질로부터 전자를 받은 peroxidase에

의해 H_2O 로 완전 환원되거나 생체내 존재하는 nM 범주의 Fe_2^+ 과 빠르게 반응하여 hydroxyl radical ($OH\cdot$)을 형성한다(Fenton reaction). 그 외에도 생체내에 존재하는 glutathione 혹은 cysteine등과 같은 thiol 화합물들은 환원 과정에서 thiyl radical($RS\cdot$)과, disulfide radical anions($RSSR^{\cdot -}$), peroxysulphenyl radicals($RSSO\cdot$)과 sulphinyl radical($RSO\cdot$) 등의 reactive sulfure radical을 형성한다.

hydroxyl radical($OH\cdot$)등의 ROS는 방사선에 의한 물의 산화로 인해 직접 생성되거나 2차적으로 생성된 ROS의 지속적인 환원이 세포내에서 진행되어 (activation) 생성되는데, 이 hydroxyl radicals는 크게 두 가지 기전에 의하여 제거된다. 그 하나는 ascorbate, α -tocopherol등의 비특이적 항산화 단백질에 의한 산소 유리기의 안정화이고, 다른 하나는 Cu, Zn-SOD(SuperOxide Dismutase), Mn-SOD, catalase, glutathione peroxidase, cytochrome C peroxidase, NADPH peroxidase 및 non-specific peroxidase 등의 항산화 단백질효소에 의한 것으로 이들 모두 세포내 ROS의 농도를 낮추어 세포손상을 줄이는 작용을 한다^{1,13,20}.

Chae 등¹⁰은 효모의 thioredoxin peroxidase와 아미노산 서열의 유사성을 보이는 TPX-A & B 및 MER5의 유전자를 대장균(*E. coli system*)에 발현 후 정제한 단백질 역시 thioredoxin dependent peroxidase 활성도를 가지며 catalase의 H_2O_2 에 대한 Km 치 25mM에 비해 이들의 H_2O_2 에 대한 Km 치는 $10\mu M$ 이하이었으며 thioredoxin에 대한 Km 치 역시 $10\mu M$ 이하로 TPX-A & B 및 MER5 등은 thioredoxin으로부터 아주 효과적으로 전자를 받아 catalase에 비해 미세한 H_2O_2 의 변화에 작용하는 것으로 보고하였다.

TPX-A & B는 Cu, Zn-SOD와 같이 세포질에, MER5는 Mn-SOD와 같이 mitochondria에 주로 존재하며 여러 조직에 분포하는데, 따라서 포유류의 TPX는 SOD와 같은 양상으로 여러 조직의 세포내

특정 소기관에 발생하는 H_2O_2 을 제거하기 위하여 부위에 따라 다른 동종 단백을 가지고 있는 것으로 보이며¹¹, ROS들중 H_2O_2 은 특히 세포내로 침입, 핵에 도달하여 transition metal ions과 반응하여 $OH \cdot$ 을 형성하며 빠른 속도로 DNA와 반응하여 DNA strand의 절단, DNA 염기의 변화 및 DNA와 단백질의 cross linkage 등을 포함한 DNA 손상을 유발하며($OH \cdot$ mediated damage) 지질의 산화와 단백질의 불활성화를 초래하여 세포손상기전에 중요하게 작용하며 염증성 질환에서부터 여러 가지 종양 질환의 발생기전에 작용하는 것으로 알려져 있다^{11,12}.

특히 DNA의 손상과 손상된 DNA의 복구 장애 및 지속적인 산화 스트레스에 의한 NF- κ B와 같은 transcription factor의 자극 및 *c-fos*, *c-jun* 및 *c-myc* 같은 protooncogene의 발현 유도 등이 종양 질환의 발암과정(cancer initiation)에 주된 기전으로 작용하는 것으로 알려져 있으며 보고자에 따라서 DNA 염기 산화의 중요한 산물로 알려져 있는 8-hydroxy-2-deoxy-guanosine(8-OH-dG)이 신장, 폐 및 유방암에서 다른 암보다 높은 것으로 보고하였다¹².

1984년 Oberley 등¹³이 종양 세포에서 Cu, Zn-SOD 및 Mn-SOD 활성도 저하 소견을 관찰하여 ROS의 발생 증가와 항산화 방어 기전의 감소가 종양 성장 촉진(cancer promotion)에 관여한다고 보고하였으며, 간암에서 catalase gene의 발현이 감소하고 종양 질환에서 glutathione peroxidase와 glutathione reductase의 활성도는 다양한 양상을 보이는 것으로 알려져 있다^{11,14,15}.

TPX의 염색체 상의 위치를 human cDNA 상에서 PCR(polymerase chain reaction) 방법 및 FISH(fluorescence in situ hybridization) 분석법으로 찾아본 결과 13q12에 위치하며, 이곳은 유방암 위험인자인 BRCA2 및 위축증의 유전인자와 관련된 지역으로 산소유리기의 적절한 처리가 발암과정, 근위축증의 발명 및 다른 질병에 있어 중요할 것으로 사료된다²⁰.

한편, 종양 질환에서 지속적인 산화 스트레스가 주변 조직의 침습(invasion) 및 원격전이(metastasis)의 하나의 기전으로 알려져 있으며¹², 특히 종양 질환에서 지속적인 산화 스트레스가 항암제 내성의 하나의 기전으로 알려진 암세포 파괴를 억제하는데 관여하는 단백질로 알려져있는 ADF(adult T-cell derived factor), GST-p(glutathione-S-transferase-p) 및 glutathione 등의 유도를 초래하며^{11,16-18}, 특히 선암에서 과발현 되는 것으로 알려져 있다¹⁶. TPX는 인체 조직 중에 산소와 많이 접하는 장기에서 높게 발현되는 경향을 보이는데 erythroid cell, renal tubular cell, myocardial cell, 골격근세포 및 특수한 종류의 신경세포에서 높게 발현되며, 산소유리기의 독성을 상쇄하여 저산소증 및 허혈에 의한 조직손상에 대해 보호 역할을 하고 세포수명을 연장한다^{21,22}.

1995년 Iwahara 등²¹은 흰쥐의 간세포내에서 항산화 단백질이 있음을 밝혀내어 이를 HBP23(heme-binding protein23)으로 명명하였는데 이는 주로 손상된 간세포의 재생에 관여하는 것으로 생각하였으며, TPX의 아형인 SP-22는 bovine adrenal cortex에서 tryptophan hydroxylase, glutamin synthetase, hemoglobin 등의 산화를 억제하는 것으로 보고되었고²³, 결핵균(mycobacterium tuberculosis)의 ahpC(alkyl hydroperoxide reductase) 유전자가 저용량의 INH(isoniazid)에 대하여 항산화 작용을 함으로써 결핵균은 INH에의 약제내성을 가지게 되고²⁴, Bacillus subtilis 168 염색체로부터 4종류의 open reading frame subtype을 분리하였으며, Entamoeba histolytica는 TSA-like protein을 생산하여 숙주의 산화공격으로부터 자신을 보호하게 된다²⁶. 뿐만 아니라, 혈장내의 알부민 역시 metal-catalyzed oxidation system에 의해 촉진되는 지질의 과산화나 glutamin synthetase의 불활성화에 맞서 혈장내의 H_2O_2 와 같은 ROS를 제거한다²³.

이상에서 논한 바와 같이 인체내에서 TPX의 발현에 관한 연구는 주로 종양 조직에 관련하여 연구되었고, 또는 중추신경계의 저산소상태에서 조직파괴를 방

어하는 기전으로 대두된 바 있으나²², 이렇듯 인체를 비롯한 포유류의 체내에 광범위하게 분포하며 다양한 항산화 방어기전을 보이는 TPX에 대하여 방사선 손상으로 인해 발생하는 ROS에 상응하는 방어작용을 밝힌 연구가 미미한 상태이다.

본 연구의 결과에서 보듯이 실제 방사선 조사에 의해 발생한 유리산소기에 대하여는 thioredoxin peroxidase system이 작용을 하지 않을 수도 있으나, 이러한 연구결과는 저자등이 백서에서 복강내 paraquat 투여 후 폐섬유화를 본 실험에서도 TPX-A & B, MER5의 양의 변화가 없었음을 관찰한 것(미발표 자료)과 일치하는 결과로, 장기의 손상을 초래하는 충격에 대하여 방어기전이 다르게 작동할 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구는 단백질의 양을 실험하였으므로 억제인자(inhibitor)가 없어진다는 전사후의 변형(post translational modification)에 의한 활성도의 차이는 측정되지 않았다. 실제 인체에서 방사선손상을 일으키는 만큼의 충분한 방사선이 조사되지 않았을 가능성도 배제하기 힘들며, TPX가 활성화 되는 데까지 더 많은 시간을 필요로 하여 섬유화과정은 일어났지만 TPX의 작동이 시작되지 않았을 가능성도 있다. 단백질 level이 아닌 RNA 혹은 DNA level에서의 실험이라면 의미있는 결과(positive data)를 얻을 수도 있을 것으로 사료된다.

참고로 백서에서 전신 방사선 조사후 간장 내에서 superoxide dismutase(SOD)와 glutathion peroxidase가 증가하고 catalase활성도는 감소하였으며 α -tocopherol 등의 항산화제 치료로 보호효과가 있었다는 보고²⁷가 있으며 방사선치료에 내성을 보이는 소세포성 폐암 세포주에서 SOD의 보호효과에 대해 기술한 보고²⁸도 있다. 또한 인체 폐 상피세포주(IB-3) 및 무흉선 백서(athymic nude mouse : Nu/J)에 인체 MnSOD, Cu/Zn SOD를 adenovirus vector를 이용하여 과발현 시켰을 경우 폐의 방사선 손상에 대한 보호효과가 있다는 보고^{29,30}가 있다. 그리고 MnSOD 유전자치료를 함으로써 비소세포성 폐암의 방사선 치료를 보다 효율적으로 할 수 있을 것이라는

제안³¹도 있었다.

하지만 인체에 해를 주는 반응성 산소 유리기(ROS)의 종류에 있어서 종양세포에 의해 발현되는 ROS와 방사선손상에 의하여 발현되는 ROS의 이질성도 고려해야 하겠으며, 각각의 sample에서 TPX 고유의 활성도를 측정하지 않았다는 점이 문제로 지적될 수 있고, 따라서 homogenization후 lysate내의 TPX activity 측정이 필요할 것으로 사료된다. 또한 조직손상의 종류와 섬유화과정의 고유기전에 따라 작용하는 scavenger protein이 다를 수도 있다는 점을 고려해야 한다.

더불어, 반응성 산소 유리기는 종양 세포에 의해서 뿐 만 아니라 체초제(Paraquat or Diquat), 근 위축증, 방사선 조사 등에 의한 비가역성의 치명적인 조직 손상에도 관여한다고 여겨지는 바, 앞으로 이 방향의 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

목 적 :

산소를 이용하는 세포들은 반응성 산소기(reactive oxygen species, ROS)로부터 자신을 보호하는 기전을 가지고 있는데, thioredoxin system으로부터 전자를 받아 과산화물을 물로 환원시키는 생화학적 성질을 가진 효모 단백질을 발견하여 이를 thioredoxin peroxidase(TPX)로 명명하였다. 이는 효모 뿐 아니라 체내 여러 장기에 고루 분포되어 있으며, 특히 종양세포에서 유리되는 반응성 산소기를 제거함으로써 종양세포의 발생(initiation), 성장(promotion) 및 전이(metastasis)를 억제하는 역할을 할 것으로 알려져 있으며, 폐암, 유방암 등의 종양세포내에서의 발현이 증가되는 것으로 보고되었다.

한편, 폐암의 치료에 있어서 방사선 치료는 폐암의 국소적 치료 및 증상 경감을 위해 중요한 위치를 차지하고 있으나, 폐의 방사선 치료에 있어 가장 중요한 장애요인은 치료후 발생하는 폐실질의 섬유화로서 방사선 조사후의 산소유리기(free radical) 손상 등에

의한 것으로 알려져 있으며, 이런 섬유화에 관여하는 인자 및 방어기전에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

이에 저자 등은 방사선 조사 후에 백서의 폐조직에서 thioredoxin peroxidase의 아형 및 catalase등이 방사선 조사로 인한 폐손상의 방어기전에 어떤 역할을 하는지 알아보기 위하여 다음과 같은 연구를 시행하였다.

대상 및 방법:

백서 18마리를 각각 3마리씩 6개 군으로 나누었고, 그 중 15마리에 900cGY의 방사선을 조사하였다. 방사선 조사를 받은 백서를 조사 직후, 1주후, 2주후, 3주후 및 6주후에 희생시켜 폐조직을 얻었고, 이들 폐조직과 대조군 3마리의 폐조직을 H & E 염색하여 폐섬유화의 정도를 관찰함과 동시에 TPX 아형 및 catalase에 대한 항체로 Western blot analysis를 시행하여 각각의 단백질의 발현정도를 비교하였다.

결 과:

대조군과 비교하여 볼 때 폐조직에서 H & E 염색상 방사선 조사후 시기별로 폐섬유화의 정도가 점차로 진행됨을 볼 수 있었으나, thioredoxin peroxidase 5가지 아형(TPX-A & B, HS22, MER5, HORF-06) 모두 방사선 조사전과 조사후, 시간경과에 따른 면역반응대(immunoreactive band)의 차이를 보이지 않았다. Catalase 역시 면역반응대의 차이를 보이지 않았다.

결 론:

체내 여러장기, 특히 폐장에 많이 분포하고, 폐암세포에 의한 반응성 산소기(reactive oxygen species)에 의하여 발현이 증가되는 것으로 알려진 thioredoxin peroxidase가 방사선 조사후에 발생한 백서의 폐섬유화에서는 그 발현의 정도가 변하지 않는 것으로 미루어 방사선으로 인한 폐손상의 복원과정에는 관여하지 않는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Bi-

ology and Medicine. Oxford:Clarendon Press; 1989.

2. Sies H. Strategies of antioxidant defense. Eur J Biochem 1993;215:213-9.

3. Kim K, Kim IH, Lee KY, Rhee SG, Stadtman ER. The Isolation and Purification of a Specific Protector Protein Which Inhibits Enzyme Inactivation by a Thiol/Fe(III)/O₂ Mixed-function Oxidatin System. J Biol Chem 1987;263:4704-11.

4. Chae HZ, Hcung SJ, Rhee SG. Thioredoxin-dependent Peroxide Reductase from Yeast. J Biol Chem 1994;269:27670-8.

5. Lim YS, Cha MK, Yun CH, Kim HK, Kim IH. Purification and Characterization of thiol-specific antioxidant proten from human red blood cell : A new type of antioxidant protein. Biochem Biophys Res Commun 1994;199(1):199-206. 6. Ishii T, Yamada M, Sato H, Matsue M, Taketani S, Nakayama K, et al. Cloning and Characterization of a 23-kDa Stress-induced Mouse Peritoneal Macrophage Protein. J Biol Chem 1993;268:18633-6.

7. Yamamoto T, Matsui S, Obinata M. Cloning of a housekeeping-type(MER5) preferentially expressed in murine erythroleukmia cells. Gene 1989;80:337-43.

8. Prosperi M-T, Ferbus D, Karczinski I, Goubin G. A Human cDNA Corresponding to a Gene Overexpressed during Cell Proliferation Encodes a Product Sharing Homology with Ameobic and Bacterial Proteins. J Biol Chem 1993;268:11050-6.

9. Shau H, Kim A. Identification of natural killer enhancing factor as a major antioxidant in human red cells. Biochem Biophys Res Commun 1994;199(1):83-8.

10. Chae HZ, Kim HJ, Kim KH, Rhee SG. Thioredoxin-Dependent Peroxide Reductase And Peroxiredoxin Family. *FASEB J* 1995;9:A1478.
11. Kim HJ, Hwang SC, Noh DY, Kim SG, Lee WY, Chae HZ, et al. Thioredoxin peroxidase의 조직내 분포 및 인체 종양 질환에서 발현에 관한 연구. *J Korean Med* 1997;52(2):165-173.
12. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Letters* 1995;358:1-3.
13. Oberley LW. The role of superoxide dismutase and gene amplification in carcinogenesis. *J Theor Biol* 1984;106:403-22.
14. Aida Y, Maeyama S, Takeuwa T, Uchikoshi T. Immunohistochemical expression of manganese superoxide dismutase in hepatocellular carcinoma, using a specific monoclonal antibody. *J Gastroenterology* 1994;29:443-9.
15. Durak I, Perk H, Kavutcu M, Canbolat O. Adenosine deaminase, 5' nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in cancerous and noncancerous human bladder tissues. *Free Radic Bio Med* 1994;16:825-31.
16. Fujii S, Nanbu Y, Nonogaki H, Korishi I, Mori T, Masutani H, et al. Coexpression of Adult T-Cell Leukemia-Derived Factor, a Human Thioredoxin Homologue, and Human Papillomavirus DNA in Neoplastic Cervical Squamous Epithelium. *Cancer* 1991;68:1583-91.
17. Nakamura H, Masutani H, Tagaya Y, Yamauchi A, Inamoto T, Nanbu Y, et al. Expression and Growth-Promoting Effect of Adult T-Cell Leukemia-Derived Factor. *Cancer* 1992;69(8):2091-7.
18. Gasdaska PY, Oblong JE, Cotgreave LA, Powis G. The predicted amino acid sequence of human thioredoxin is identical to that of the autocrine growth factor human adult T-cell derived factor (ADF): Thioredoxin mRNA is elevated in some human tumors. *Biochim Biophys Acta* 1994;1218(3):292-6.
19. Riley PA. Free radicals in biology - oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 1994;65(1):27-33.
20. Pahl P, Berger R, Hart I, Chae HZ, Rhee SG, Patterson D. Localization of TDPX1, a human homologue of the yeast thioredoxin dependent peroxide reductase gene (TPX), to chromosome 13q:12 Genomics. 1995;26(3):602-6.
21. Iwahara S, Satoh H, Song DX, Webb J, Burlingame AL, Nagae Y, et al. Purification, characterization, and cloning of a heme-binding protein (23kDa) in rat liver cytosol. *Biochem* 1995;34(41):13398-406.
22. Ichimiya S, Davis JG, O'Rourke DM, Katsumata M, Greene MI. Murine thioredoxin peroxidase delays neuronal apoptosis and is expressed in areas of the brain most susceptible to hypoxic and ischemic injury. *DNA Cell Biol* 1997;16(3):311-21.
23. Cha MK, Kim IH. Glutathione-linked thiol peroxidase activity of human serum albumin—a possible antioxidant role of serum albumin in blood plasma. *Biochem & Biophys Res Commun* 1996;222(2):619-25.
24. Wilson TM, Collins DM. *ahpC*, a gene involved in isoniazid resistance of the *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Microbiol* 1996;19(5):1025-34.
25. Cummings NJ, Connerton IF. The *Bacillus subtilis* 168 chromosome from *sspE* to *katA*. *Microbiology* 1996;143(Pt6):1885-9.
26. Poole LB, Chae HZ, Flores BM, Reed SL, Rhee SG, Torian BE. Peroxidase activity of a TSA-like antioxidant protein from a pathogenic amoeba. *Free Radic Biol & Med* 1997;23(6):955-9.

27. Thresiamma KC, George J, Kuttan R. Protective effect of curcumin, ellagic acid and bixin on radiation induced toxicity. *Indian J of Exp Biol* 1996; 34(9):845-7.
28. Pfeifer A, Mark G, Leung S, Dougherty M, Spillare E, Kasid U. Effects of c-raf-1 and c-myc expression on radiation response in an in vitro model of human small-cell-lung carcinoma. *Biochem & Biophys Res Commun* 1998;252(2): 481-6.
29. Zwacka RM, Dudus L, Epperly MW, Greenberger JS, Engelhardt JF. Redox gene therapy protects human IB-3 lung epithelial cells against ionizing radiation-induced apoptosis. *Hum Gene Ther* 1998;9(9):1381-6.
30. Epperly MW, Bray JA, Berry LM, Gooding W, Engelhardt JF, Zwacka R, et al. Intratracheal injection of adenovirus containing the human MnSOD transgene protects athymic nude mice from irradiation-induced organizing alveolitis. *Int J Radiat Oncol, Biol, Phys* 1999;43(1):169-81.
31. Greenberger JS, Bahri S, Jett J, Belani C, Kalend A, Epperly M. Considerations in optimizing radiation therapy for non-small cell lung cancer. *Chest* 1998;113(1 suppl):46s-52s.