

## Morphological changes by whole-body $\gamma$ -irradiation in mouse jejunal villi

Ki-Jung Chun, Jin Kyu Kim, Chi Won Song\*, Moo Kang Kim\*

Korea Atomic Energy Research Institute

\* College of veterinary medicine, Chung Nam National University

### 생쥐 공장 용모의 감마선 전신조사에 의한 형태학적 변화

천기정 · 김진규 · 송치원\* · 김무강\*

한국원자력연구소, \* 충남대학교 수의과대학

(2000년 9월15일 접수, 2000년 12월15일 채택)

**Abstract** - Radiotherapy may be considered as one of the most effective treatments for digestive tumors. This procedure has major side effects, especially in fast growing tissues like intestinal mucosa. For this reason, the morphological changes in mouse jejunal villi after whole body  $\gamma$ -irradiation were analysed. Four week old ICR male mice were irradiated with 6.5Gy or 12Gy of whole body  $\gamma$ -irradiation and were sacrificed 3 days later. Jejunum among intestine were taken for morphology. Samples were carried out dehydration process and sliced sample covered with paraffin was hold on the slide and then light microscopy was observed by Hematoxylin & Eosin staining. Villi at both irradiated doses were showed that the length of villi were shortened and thickened and that lumen were expanded in comparison with non-irradiated group. Since villi have an important role in digestion and very sensitive to radiation from this test, it has a role of test parameter for finding radioprotectors as well as evaluating the biological effect by radiaton.

**Key Words** : jejunum, villi,  $\gamma$ -irradiation, Hematoxylin & Eosin(H & E) staining, lumen

**요약** - 소화기계 암의 효과적인 치료중의 하나로 방사선 치료법을 들 수 있으나 이 방법은 장 점막과 같이 빠르게 증식하는 조직에는 특히 부작용을 초래할 수 있다. 생쥐의 공장 용모가 감마선 전신 조사에 의해 형태학적으로 변화하는 정도를 관찰하였다. 생후 4주된 ICR계 생쥐를 6.5Gy와 12Gy를 전신 조사 3일 후에 공장을 채취하여 탈수 과정을 거쳐 파라핀을 입힌 조직을 절편기로 잘라 슬라이드에 부착시키고 일반적인 Hematoxylin & Eosin 염색과정을 거쳐 염색후 광학현미경으로 관찰한 결과, 6.5Gy와 12Gy를 조사 받은 생쥐의 용모는 대체로 정상생쥐와 비교할 때 용모의 길이가 짧아졌으며 용모의 두께가 비후되었고 내강은 넓어지는 경향을 나타내었다. 따라서 용모가 소화과정에 중요한 역할을 담당하며 방사선에 비교적 민감함을 나타내므로 방사선에 의한 생체영향 평가 뿐만아니라 방사선 방어제를 검색하는데 하나의 실험 파라메타가 충분히 될 수 있음을 인지하였다.

**중심어** : 공장, 용모, 감마선, 헤마톡실린-에오신 염색, 내강

### 서 론

화학요법이나 방사선 요법은 비수술적인 방법으로 암치료에 널리 사용되며 복부 소화 장기의 암 발생이 증가함에 따라 복부에 방사선 치료를 실시할 경우가 계속 증가하고 있다. 암치료에서 방사선 치료는 중요한 역할을 하지만 암주변(peritumoral)의 정상조직의 세포손상 때문에 부

수적인 부작용(side effect)이 문제가 된다. 방사선 조사에 의한 소장 점막(mucosa)에서의 급성 장애는 apoptosis나 crypt base에서 적절한 mitotic activity의 결여에 의해 세포사를 초래할 가능성이 높으며1) 복부나 골반의 방사선 치료에서 위장 기능의 저해는 중요한 제한요인이 된다. 2) 생체의 소장은 영양소를 흡수하고 용모가 존재하는 중요한 기관으로 방사선 조사에 의한 용모

의 조직학적 변화에 대한 연구는 방사선에 의한 생체효과를 보다 정확하게 파악할 수 있는 좋은 자료로 제공될 수 있다. 따라서 이 연구는 생쥐에 감마선을 전신 조사한 후 음모의 조직적인 변화를 관찰하여 방사선 방어제 개발의 하나의 파라메타로 적용될 수 있는가를 평가하였다.

**재료 및 방법**

방사선 조사 및 조직 채취 : 생후 4주(체중 20g) 된 생쥐 ICR계 수컷 15마리를 한국 화학연구소 독성 연구실로부터 구입하여 한 그룹당 5마리로 하여 3개의 실험군으로 나누어 사용하였다. 생쥐는 물과 일반 사료로 사육하였으며 방사선 조사는 한국 원자력 연구소 소재 코발트-60 선원(선원강도 150TBq, Panoramic Irradiator, Atomic Energy of Canada Limited)에서 선량률을 1 Gy/min.로 하여 6.5Gy와 12Gy를 전신 조사시켰다. 생쥐는 방사선 조사후 3일 경과한 후에 생쥐의 소장중 공장(jejunum)을 적출하여 10% 중성 완충 포르마린용액에 담가 보관하여 시료로 사용하였다.

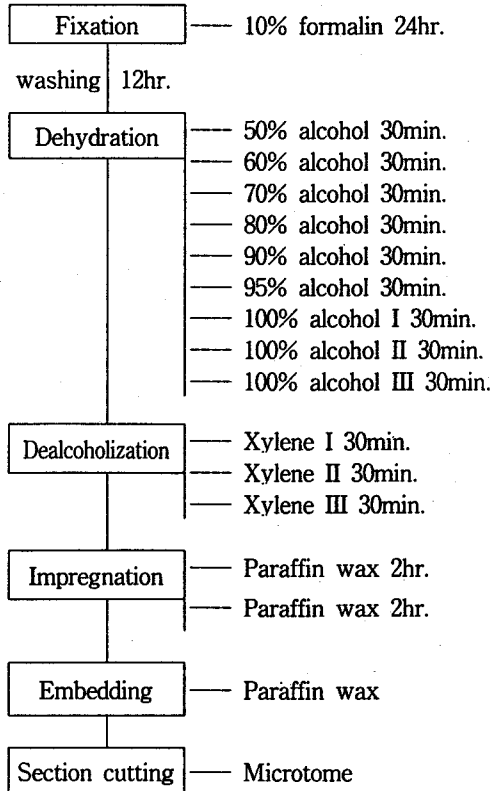


그림 1. Tissue Processing

조직 section : 그림 1과 같이 10% 중성 완충 포르마린 용액에 24시간 고정하고 12시간동안 물로 씻은 후 50%에서 100%까지 여러농도의 알콜용액을 사용하여 탈수 과정을 거친후 xylene 용액으로 탈알콜시키고 파라핀에 포매하였다. 조직절편기(Reichert Jung)를 이용하여 포매된 조직을 5 μm 두께로 자르고 젤라틴이 입혀진 슬라이드에 부착시켰다.

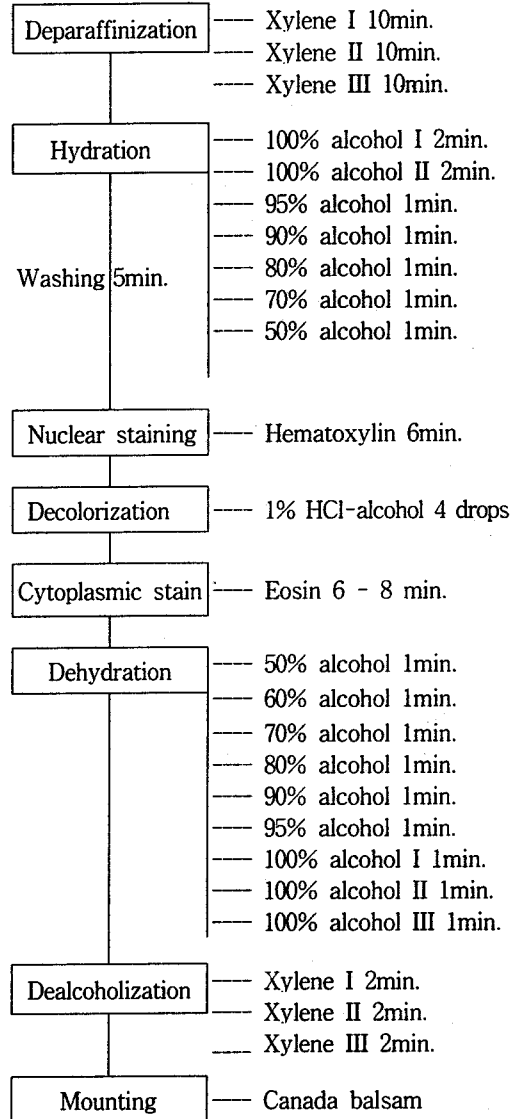


그림 2. Hematoxylin & Eosin staining

조직 염색 및 관찰 : 35 °C 슬라이드 건조기에서 12시간 건조시킨후 그림 2와 같이 일반적인 염색

방법인 Hematoxylin & Eosin staining으로 염색하였다. 즉 xylene을 이용하여 파라핀을 제거하고 100%에서 50%까지 여러농도의 알콜용액으로 흡수 과정을 거친후 hematoxylin으로 6분간 염색하고 탈색시킨후 eosin으로 6-8분간 다시 염색하고 50%에서 100%까지 여러농도의 알콜용액으로 다시 탈수 과정을 거치고 xylene을 이용하여 탈알콜시키고 Canada balsam으로 마운팅한 후에 광학현미경으로 40배와 100배의 배율로 조직을 관찰하였다.

### 결과 및 고찰

방사선을 조사하지 않은 정상의 생쥐의 공장은 그림 3과 같다. 이와같이 정상적인 용모는 균일하게 배열되어 있으며 용모 길이(villi length)는 비교적 길게 나타나고 있다. 반면 그림 4에서와 같이 6.5Gy를 전신 조사받은 생쥐 공장의 용모형태는 정상 용모와 달리 용모 한쪽만 짧아졌고 용모 두께가 정상적인 용모보다 비후되었으며 내강이 넓어지는 경향을 보였다. 또한 보다 높은 방사선 선량인 12Gy를 전신 조사받은 생쥐 공장의 용모형태는 그림 5에서와 같이 전체적으로 용모 길이가 짧아졌으며 용모 두께가 비후되고 내강이 6.5Gy와 같이 넓어졌으나 선량이 높아질수록 훨씬 더 넓어지는 경향을 알 수 있었다. 따라서 방사선 선량이 증가할수록 용모의 손상이 심하게 초래함을 알 수 있었다. 소장의 표면에는 돌림 주름(plicae circulares, Kerckring's valves)이 항상 존재하며 이 주름은 점막층과 점막하층으로 구성되어 있으며 모양은 반달형(semi-lunar form)인 것과 고리형(circular form)인 것, 그리고 나선형(spiral form)인 것이 있는데 이 주름은 공장(jejunum)에서 가장 특징적으로 발달해 있다. 이를 확대하면 장용모(intestinal villi)가 관찰되는데 길이가 0.5 -1.5mm이고 점막층(상피와 점막고유판)이 소장의 내강쪽으로 돌출되어 형성된 구조이다. 소장은 용모, 장샘(intestinal gland), 점막근육관(muscularis mucosae), 점막하층(submucosa), 외근육층(external muscle layer) 및 내근육층(internal muscle layer)로 구성되어 있다. 이중 미세 용모는 장의 표면과 음식물이 접촉할 수 있는 표면적을 크게 늘려주는 중요한 기능을 하며 분별 원심분리법(differential centrifugation)을 이용하여 세포로부터 줄무늬 가장자리를 분리한 후, 면역형광법(immunofluorescence technique)으로 연구해보면 이구조에는 이당류 가수분해 효소(disaccharidase)

의 활성이 존재함을 알 수 있으며 이효소는 미세 용모에 결합되어 있고 이당류를 단당류로 가수분해 시켜 쉽게 흡수되게 한다. 그러므로 이 이당류 가수분해 효소의 결핍은 사람에 있어서 소화장애(digestive disturbance)의 원인이 되며 이 효소 결핍증 일부는 유전적인 원인에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다.3) Lewicki등(1975)은 흰쥐에 X-선을 준치사선량 조사한 후 소장의 상피세포(epithelium)에서의 조직학적 연구를 한 결과 방사선 조사 1, 2일 후에 변형되기 시작함을 보고4))하였으며 소장의 평활근 기능의 신경 조절약인 reserpine을 사용하여 방사선과 평활근 손상사이에 상호관계를 보였으며 5) 아미노산인 글루타민이 흰쥐를 사용하여 300cGy씩 5일간 총 1500cGy를 복부 조사한 다음 방사선 치료동안 및 후에 체중감소가 훨씬 줄어들음을 나타내어 영양학적인 면이 방사선 치료에 좋은 효과를 나타냄을 보고하였다. 6) 따라서 이 연구결과, 감마선 방사선 전신 조사로 급성장해를 받은 3일 째 되는 날의 생쥐의 용모 형태를 보면 비교적 용모의 많은 손상을 초래함을 나타내어 용모가 복부 조사가 아닌 전신 조사에서도 방사선에 예민함을 보여주므로써 방사선에 의한 생체영향을 평가함과 동시에 소장이 체내에서 중요 장기 못지않게 중요한 역할을 담당하는 기관으로서 방사선 방어제 개발의 하나의 파라메타로서 가능성을 인지할 수 있었다.

### 결론

생쥐의 공장용모(jejunal villi)가 방사선에 의해 방사선 조사하지 않은 대조군에 비해 용모 길이가 짧아지며 두께는 비후되고 내강은 넓어지는 경향을 보여 비교적 방사선에 민감함을 나타냄을 알 수 있었으며 이중 용모 길이는 소화과정중 흡수 면적에 막대한 영향을 끼치므로 기능적으로 생체에 중요한 역할을 갖기 때문에 방사선 방어제를 찾거나 검색하는데 하나의 실험 파라메타가 충분히 될 수 있음을 인지하여 특정물질의 방사선 방어효능 및 민감화 효능을 평가하는데 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력 연구개발 사업의 일환으로 수행되었습니다.

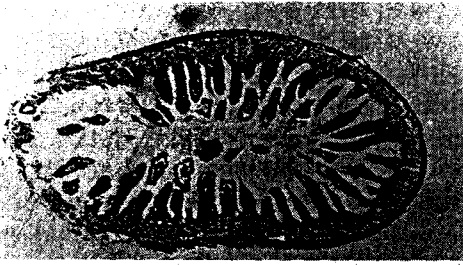


Fig. 3. Morphological view of the control mouse jejunal villi. A (x40), B (x100).

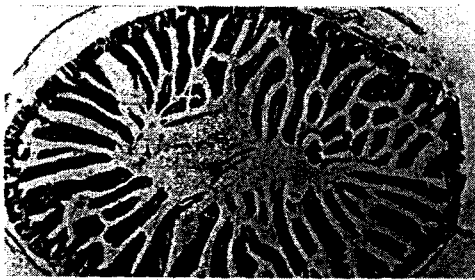


Fig. 4. Morphological changes of mouse jejunal villi after irradiation with 6.5 Gy. A (x40), B (x100).

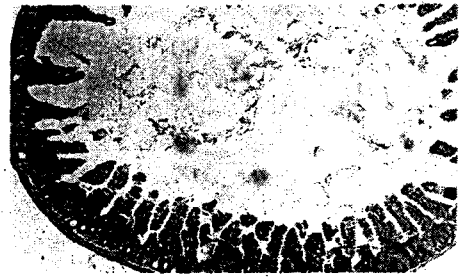


Fig. 5. Morphological changes of mouse jejunal villi after irradiation with 12 Gy. A (x40), B (x100).

### 참고 문헌

1. A. Orazi, X. Du, Z. Yang, M. Kashai and D.A. Williams, "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).
2. B. Abbas, E.C. Boyle, D.J. Wilson, A.C. Nelson and K.E. Carr, "Radiation induced changes in the blood capillaries of rat duodenal villi: a corrosion cast, light and transmission electron microscopical study", *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 22:63-70(1990).
3. L. Carlos Junqueira, J. Carneiro and R.O. Kelley. "Basis histology", Appleton & Lange (1992).
4. A. Lewicki, R. Figurski and A. Sulikowska, "Histological studies on the regeneration of small-intestine epithelium of rats irradiated with sublethal doses of X-rays", *Pol. Med. Sci. Hist. Bull.*, 15:539-549(1975).
5. M. Indran, F.C. Boyle and K.E. Carr, "Simulation with pharmacological agents of radiation

- damage to small intestinal villi", *Scan. Electron. Microsc.*, 3:1165-75(1985).
6. F.G. Campos, D.L. Waitzberg, D.R. Mucerino, E.L. Goulves, A.F. Logulo, A. G.A. Habr and J.L. Rombeau, "Protective effects glutamine enriched diets on acute actinic enteritis", *Nutr. Hosp.*, 11:167-177(1996).