大韓獸醫學會誌(2008) 第48卷 第4號
Korean J Vet Res(2008) 48(4) : 393~399

감마선을 조사한 마우스의 조혈 및 소장줄기세포에 대한 fucoidan의 방호효과

박은진 · 전성모 · 주홍구 · 황규계 · 지영흔*
제주대학교 수의과대학
(게재승인: 2008년 12월 5일)

Radioprotective effect of fucoidan against hematopoietic and small intestinal stem cells of γ-ray irradiated mice

Eunjin Park, Seong Mo Jeon, Hong-Gu Joo, Kyu-Kye Hwang, Youngheun Jee*
College of Veterinary Medicine and Applied Radiological Science Research Institute, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea
(Accepted: December 5, 2008)

Abstract : We investigated the potential of fucoidan for its ability to provide protection from gamma ray-induced damage. In our results, the fucoidan significantly improved the counts of endogenous colony forming unit to 9.5 ± 1.5, from 5.5 ± 2.5 compared with un-treated irradiated control group at 10 day after 7 Gy whole body irradiation. After 2 Gy irradiation, fucoidan treatment attenuated the percent of tail DNA of splenocytes, parameters of DNA damage, from 30.17 ± 1.7% to 13.67 ± 2.81% by comet assay and also accelerated the proliferation of splenocytes, compared with un-treated irradiated control group by ^{3}H-thymidine incorporation assay. Furthermore, fucoidan decreased the number of apoptotic fragments per intestinal crypt by 31.8% at 1 days after 2 Gy irradiation. These results indicated that the fucoidan significantly improved the hematopoietic recovery, prevented the DNA damage in immune cells and enhanced their proliferation, which had been suppressed by ionizing radiation. in addition, fucoidan rescued intestinal cells from radiation-induced apoptosis. Thus, this study raises the possibility of using fucoidan as adjuvant therapeutic agent after radiotherapy.

Keywords : apoptosis, fucoidan, gamma-ray, hematopoiesis, mice

서 론

방사선 및 방사성 동위원소의 산업적 및 의학적 이용이 현격히 증가함에 따라 이와 함께 방사선 피폭 시 일어나는 전신 또는 국소장기의 장해에 대한 관심도가 높아지고 있으며, 이런 부작용을 완화시켜줄 수 있는 방사선 방어물질에 대한 연구가 요구되고 있다. 방사선은 세포에 직접적으로 영향을 주어 DNA에 손상을 일으키거나, 간접적으로 세포 내 물분자의 이온화로 생긴 산화적 라디칼에 의해 세포 내 DNA, RNA, 단백질 또는 세포막에 손상을 입힌다 [9]. 특히 면역조혈계와 소화기계 등의 재생 조직은 방사선에 의한 생체 손상에 민감하여 방사선에 의한 급성 장애는 이들 재생조직의 손상에 의해 나타난다 [10]. 따라서 방사선에 의한 부작용을 효과적으로 감소시키기 위해서는 방사선에 의한 재생조직의 손상을 억제시킴과 동시에 손상된 재생 조직의 회복을 증진시키는 것이 필수적이다 [4].

방사선 방호제에 대한 연구는 Walter Reed 연구센터에서 개발한 thiol 복합체인 WR-2771(amifostine)을 비롯하여 interleukin-1과 같은 면역증강제, tumor necrosis

*Corresponding author: Youngheun Jee
College of Veterinary Medicine, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea
[Tel: +82-64-754-3374, Fax: +82-64-756-3354, E-mail: yhjee@cheju.ac.kr]

factor, granulocyte colony-stimulating factor와 같은 조혈 증강제 등의 합성물질과 생물제제의 개발이 많이 이루어졌음에도 불구하고, 이런 화합물은 방어효능과 함께 오심, 구토, 고혈압 등의 부작용이 많을 뿐만 아니라 고가이기 때문에 실제 임상적용이 거의 어려운 실정이다 [6, 15, 17, 18, 21]. 이에 더욱 생체에 안정적이고, 값이 싸며, 효과적인 방사선 방어제의 개발 필요성이 제기되고 있다. 생약과 같은 천연물들은 각종 질병이나 상해회복에 효과적이며, 독성이 적어 특별히 부작용을 나타내지 않는다. 따라서 이들의 약리학적 작용 기전 또는 성분에 대한 연구 및 건강식품으로서의 개발 연구가 활발히 진행되고 있다.

미역, 다시마 등의 갈조류는 우리나라와 일본, 중국 등에서 식품과 약으로 복용하여 왔으며, 그 중 fucoidan은 갈조류에 다량 함유되어 있는 다당류 중의 하나로 최근 많은 연구를 통해 항암작용, 면역조절작용, 항바이러스 작용 그리고 조혈줄기세포의 말초 혈액으로 이동 증가 등과 같은 생리활성이 보고되었다 [5, 7, 13, 19]. 우리는 최근 마우스 생체 실험에서 미역에서 추출한 fucoidan이 항산화 효과를 가진다는 보고를 바탕으로 [3], 본 연구에서 fucoidan이 방사선에 의한 산화적 세포손상에 방호 효과 및 방사선 장해 경감 효과를 살펴보고자 방사선에 의해 유도된 면역세포의 DNA 손상, 억제된 조혈기능과 면역세포의 증식능 및 소장움의 apoptosis에 대한 방호효과를 조사하였다.

재료 및 방법

실험 동물

실험동물은 6-10주령, 24-30 g의 C57BL/6 마우스(오리엔트바이오, 한국)를 사용하였다. 사육실 온도를 23±3°C, 습도를 50±5%로 유지시키고 마우스 전용 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험군은 C57BL/6 마우스를 정상 대조군과 방사선 조사 대조군, 추출물 병행 투여군으로 각 군마다 3마리로 나누어 실험하였다. 본 연구를 위한 동물실험 계획서는 제주대학교 동물관리 및 사용위원회의 승인을 받았으며, 모든 실험은 제주대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

시료와 처치

*Fucus vesiculosus*에서 순수 분리된 화합물인 fucoidan은 Sigma-Aldrich(USA)에서 구입하였다. 정상군과 방사선조사 대조군은 PBS(phosphate-buffered saline)를, 그리고 시료병행투여군은 fucoidan(10 mg/kg/마우스)을 방사선 조사 17시간 전과 방사선 조사 후 1시간에 복강 내에 각각 동량 투여하였다.

방사선 조사

동물에 대한 방사선 조사는 마우스를 perspex box(3 × 3 × 11 cm)에 넣고 ^{60}Co γ 선 조사기(Theratron-780 teletherapy unit; 방사선응용과학연구소, 제주대학교, 한국)를 이용하여 비장의 회복과 내재성 비장 집락형성시험을 위해 7 Gy를 조사하였고, 비장세포의 DNA 손상정도와 증식능 및 소장움의 apoptosis 측정 시험에서는 2 Gy를 1.5 Gy/min 선량률로 1회 전신 조사하였다.

비장의 회복과 내재성 비장집락 형성시험

방사선 조사로 억제된 조혈기능에 대한 fucoidan의 효능을 알아보기 위해 준치사량인 7 Gy의 방사선을 조사한 후 10일에 각 실험군의 마우스를 희생시켜 각각의 체중과 비장의 무게를 재서 체중에 대한 비장 무게의 비율(SW/BW)을 구하고, 비장표면에 형성된 조혈 집락 수를 세었다.

비장세포의 준비

마우스의 비장을 채취하여 세포 여과기를 통해 단일세포 부유액을 얻었다. 이렇게 얻은 세포는 ACK (ammonium chloride)용액과 함께 10분간 실온에서 배양한 뒤 Dulbecco's phosphate-buffered saline(Gibco BRL, UK)로 세정한 다음, 10% 소태아 혈청(Gibco BRL, UK)과 1% 항생제(100 U/ml penicillin-streptomycin; Gibco BRL, UK)가 포함된 RPMI-1640 배지(Gibco BRL, UK)에 부유시켰다.

비장세포에서의 comet assay를 이용한 DNA 손상억제 측정

마우스의 비장세포에서 방사선에 의해 유도된 DNA 손상에 대한 fucoidan의 억제효과를 확인하기 위해 comet assay를 실시하였다. 방사선 전신조사 후 24시간에 마우스를 희생시킨 후 비장을 채취하여 각 마우스 마다 5 × 10^4의 비장세포를 얻었다. 이렇게 얻은 세포를 1 ml의 DPBS에 세척을 한 다음, 0.7% low melting point agarose (LMA; Invitrogen, USA)와 섞은 후 1% normal melting point agarose(Sigma, USA)가 코팅되어 있는 슬라이드 위에 75 μl을 도포하여 4°C 냉장고에 넣어 굳힌 후 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 μl를 올려 굳혔다. 슬라이드를 lysing solution(2.5 M NaCl, 100 mM Na_2-EDTA, 10 mM Tris-HCl pH 10, 1% DMSO, 1% Triton X-100, 1% N-lauroulsarcosinate)에 침전시키고, 4°C, 암실에서 1시간 동안 침지시켜 용해시켰다. 그 후 슬라이드를 전기영동장치에 배열하고 4°C unwinding buffer(300 mM NaOH, 10 mM Na_2-EDTA pH 8)를 채워 20분 동안 unwinding 시킨 후, 25 V/300 mA의 전압 하에서 20분간 전기영동

을 실시하였다. 전기영동이 끝난 슬라이드는 neutralization buffer(0.4 M Tris, pH 7)로 15분씩 세척한 뒤, ethidium bromide로 nucleotide를 염색하여 형광현미경에서 관찰하였다. DNA 손상 정도는 마우스 마다 50개의 세포를 관찰하여 각각의 세포핵 이미지를 comet image analyzing program인 Komet 5.5 프로그램(Kinetic Imaging, UK)을 이용하여 tail DNA%, tail movement 및 tail length로 나타내었다.

비장세포의 증식능 검사

말초면역세포의 회복증진효과 측정을 위해 비장세포 증식능력 검사를 ^{3}H-thymidine incorporation 방법으로 측정하였다. 방사선 조사 후 9일째에 비장으로부터 분리한 비장세포(4×10^5/well)를 96 well plate의 각 well에 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% streptomycin과 penicillin이 포함되어 있는 RPMI 배지와 함께 분주하고, 36.5°C, 5% CO_2, 포화습도가 있는 incubator에서 72시간 배양 후, ^{3}H-thymidine(42 Ci/mmol; Amersham, USA)를 1 μCi/well를 첨가하여 배양하였다. 18시간 후에 유리섬유 여지에 포획하여 건조시킨 후 방사선 측정기(MicroBeta TriLux; Perkin Elmer, Germany)를 이용하여 ^{3}H-thymidine 양을 측정하였다.

소장움에서의 apoptotic fragment 빈도 검사

방사선 조사 후 24시간에 마우스를 희생시켜 소장을 채취하고 10% 중성포르말린에 1일 이상 고정시킨 뒤 각 마우스 당 5-6개의 소장편을 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매를 하였다. 이후 5 μm 두께의 절편을 만들어 H&E 염색을 한 뒤, 광학현미경하에서 5-10개의 가로절편 조직을 검경하여 50개의 소장움에서 apoptotic fragment 수를 세어 분석하였다. 방사선에 의해 유도된 apoptosis는 핵의 위축, 염색질의 응축과 변연화 그리고 세포성 분절 등의 형태학정 특징을 증거로 판별하였다[2].

통계처리

각 실험결과는 평균값 ± 표준편차로 나타내었고, Student *t*-test를 이용하여 통계 처리한 후 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결 과

Fucoidan에 의한 비장의 회복과 조혈 촉진

정상 대조군에서는 비장 집락을 관찰할 수 없는 반면 7 Gy 방사선 조사 대조군은 5.5 ± 2.5개로 그 수가 증가하였다. 그리고 fucoidan 병행 투여군은 9.5 ± 1.5개로 방사선 조사 대조군에 비해 그 수가 유의성 있게 증가하였다(Figs. 1A and B, $p < 0.05$). 이 결과는 방사선이 조사된 마우스에서 fucoidan이 비장집락 수를 방사선 조사 대조군에 비해 약 1.7배 증가시킨 것으로, fucoidan이 조혈모세포의 방호와 재생성을 촉진시키는 효과가 뛰어난 것을 알 수 있다. 그리고 정상 대조군의 체중에 대한 비장 무게의 비율이 0.39 ± 0.11%인데 비해 방사선 조사 대조군은 0.21 ± 0.03%로 확연히 작은 체중에 대한 비장의 비율을 나타내었다. 반면, fucoidan 병행 투여군은 체중에 대한 비장 무게의 비율이 0.31 ± 0.04%로 방사선 조사 대조군에 비해 47.3%로 뚜렷한 증가를 보였다(Fig. 1C). 이렇게 증가된 체중에 대한 비장 무게의 비율은 방사선 조사에 의한 손상으로부터 비장의 회복을 의미한다.

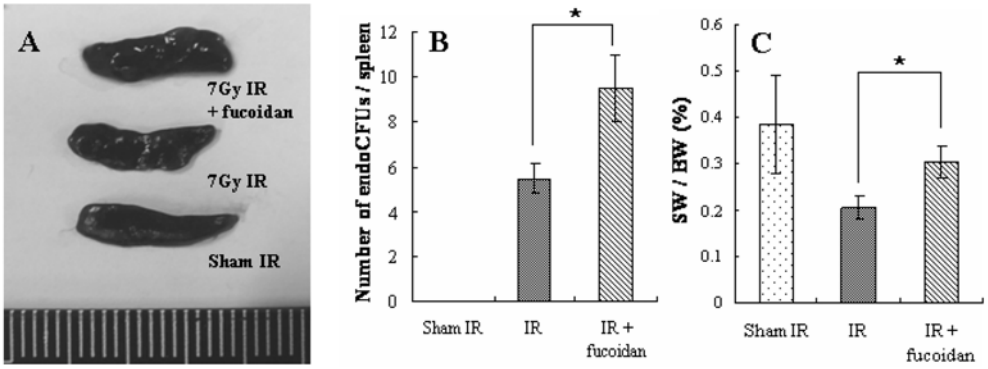

Fig. 1. The effect of fucoidan on endogenous spleen colonies in mice at 9 days after irradiation. Photograph of spleens excised from each group (A). The columns indicate the number of endogenous colony on spleen surface in each group (B). The columns indicate the percentage of spleen weight (SW) per body weight (BW) (C). Each data point represents the mean ± SEM ($^*p < 0.05$). Although all spleens decreased in size after irradiation, the spleens of fucoidan recipients were bigger and had more endogenous splenocyte colonies.

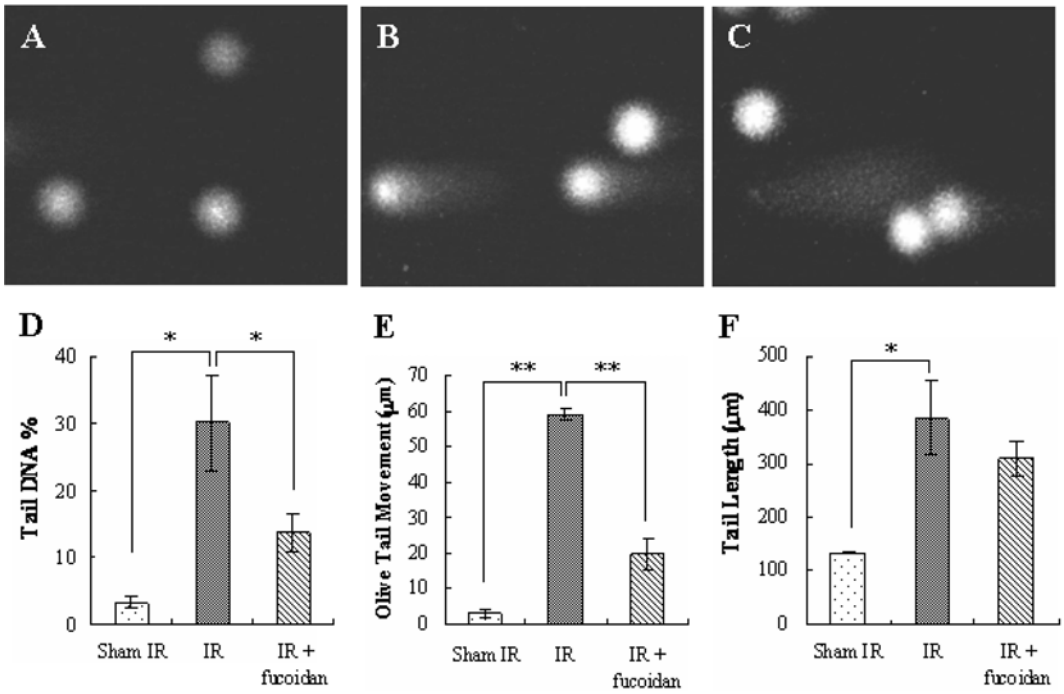

Fig. 2. The effect of fucoidan on irradiation induced DNA damage in splenocytes using Comet assay. Mice were exposed to: sham irradiation (A), 2 Gy irradiation (B), 2 Gy irradiation plus fucoidan (10 mg/kg b.w., i.p.) treatment (C). The columns indicate tail DNA% (D), Olive tail movement (E), and tail length (F) in each group. The alkaline comet assay is an effective technique for monitoring the extent of DNA strand breaks. DNA damage is reflected in an increase of tail length and movement and a rise in percentage of DNA in the tail. When fucoidan was administrated with irradiation, there were a significant decrease in comet parameters. Each data point represents the mean ± SE of about 50 cells per mouse by Student's *t*-test ($^{*}p < 0.05$).

Fucoidan에 의한 비장세포에서의 DNA 손상억제

Comet assay는 *in vivo*와 *in vitro* system에서 각각의 세포수준에서 DNA 손상을 빠르고 민감하게 감지해 낼 수 있어, 많은 화학적 생물학적 인자에 의한 DNA 손상을 확인할 수 있는 유용한 기법이다 [8]. 따라서 방사선에 의해 유도된 DNA 손상에 대한 fucoidan의 효과를 평가하기 위해 comet assay를 수행하였다. 비장세포는 감마선 조사를 한 군에서는 tail DNA%, tail movement 및 tail length가 각각 30.17 ± 1.7%, 60.27 ± 1.56 μm 및 384.36 ± 69.07 μm로 크게 증가한 반면, fucoidan을 병행 투여한 군에서는 13.67 ± 2.81%, 19.52 ± 4.34 μm 및 309.03 ± 31.97 μm로 유의성 있게 감소하여 각각 2.2, 3.6 및 1.2배 억제되었다(Fig. 2, $p < 0.05$). 이는 fucoidan이 방사선 조사에 의해 생기는 비장세포의 DNA 손상을 효과적으로 억제시키는 효능을 가지고 있다는 것을 의미한다.

Fucoidan에 의한 비장세포의 증식능 증가

내재성 비장 집락의 형성 결과를 바탕으로 방사선 조사 후 억제된 면역세포의 증식능에 fucoidan이 미치는 영향을 확인하기 위해 ^{3}H-thymidine incorporation 실험을 수행하였다. 방사선 조사 후 9일째 얻은 비장세포에서 fucoidan 병행 투여군은 2,762 ± 231 cpm(counts per minute)으로 방사선 조사 대조군이 2,003 ± 623 cpm에 비해 약 1.4배 증가를 나타내었다(Fig. 3). Fucoidan 투여는 비장세포의 손상을 억제를 시킬 뿐만 아니라 비장세포의 증식을 촉진시키는 것으로 사료된다.

소장움의 apoptotic fragment 형성 억제

방사선 조사 후 24시간에 apoptotic cell은 소장에서의 줄기세포에 해당하는 소장움의 기저부에 주로 형성되었으며, H&E 염색상에서 핵염색질과 세포질의 농축 및 세포성 분절의 특성을 나타내었다. 반면 fucoidan 병행 투여군의 소장에서 각 소장움당 apoptotic fragments의 수는 3.80 ± 0.31개(Fig. 4B)로 , 방사선 조사 대조군에서의 5.57 ± 0.61개(Fig. 4A)에 비해 32%의 소장움의 apoptosis 억제 효과가 유의성 있게 나타났다(Fig. 4C, $p < 0.05$). 이로써 fucoidan이 방사선 조사에 의한 비장세

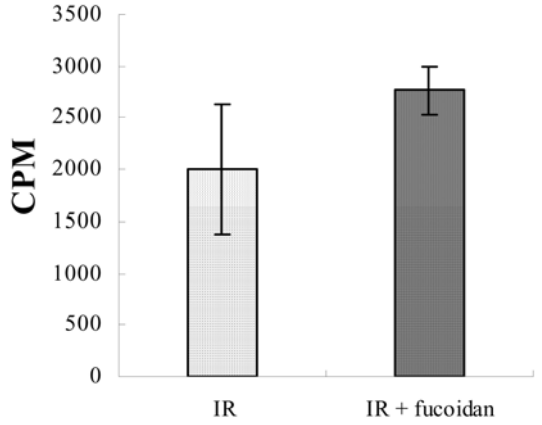

Fig. 3. The effect of fucoidan on proliferation ability of splenocytes. Splenocytes were separated from mice at 9 days after 2 Gy irradiation. Background proliferation is 177 ± 28 cpm. Concanavalin A (Con A)-induced proliferation is 17,453 ± 1,828 cpm respectively. Each data point represents the mean ± SE.

포 손상뿐만 아니라 소장에서 재생력이 있는 stem cell에 해당하는 소장움 세포의 apoptosis를 억제시켜 방사선 장해에 대한 방호 효과를 나타냄을 알게 되었다.

고 찰

본 연구에서 fucoidan이 방사선에 의해 억제된 조혈기능을 향상시키고 비장세포의 손상을 억제시킬 뿐만 아니라 면역세포의 증식능을 증가시키며, 방사선에 민감한 소장움 세포의 방사선에 대한 저항성을 증가시킨다는 것을 확인하였다.

Fucoidan은 1913년 Killing에 의해 처음 보고된 이후, 주로 갈조류에 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. Li 등 [14]에 따르면 다시마(*Laminaria japonica*)에서 추출한 fucoidan(약 4,000 mg/kg)을 쥐에게 경구 투여한 단기 독성 검사에서 독성을 관찰할 수 없었으며, Cooper 등은 미역 포자엽에서 추출한 fucoidan 1~2.5 g을 1개월에서 2년 동안 임상실험을 진행한 결과, 부작용을 발견하

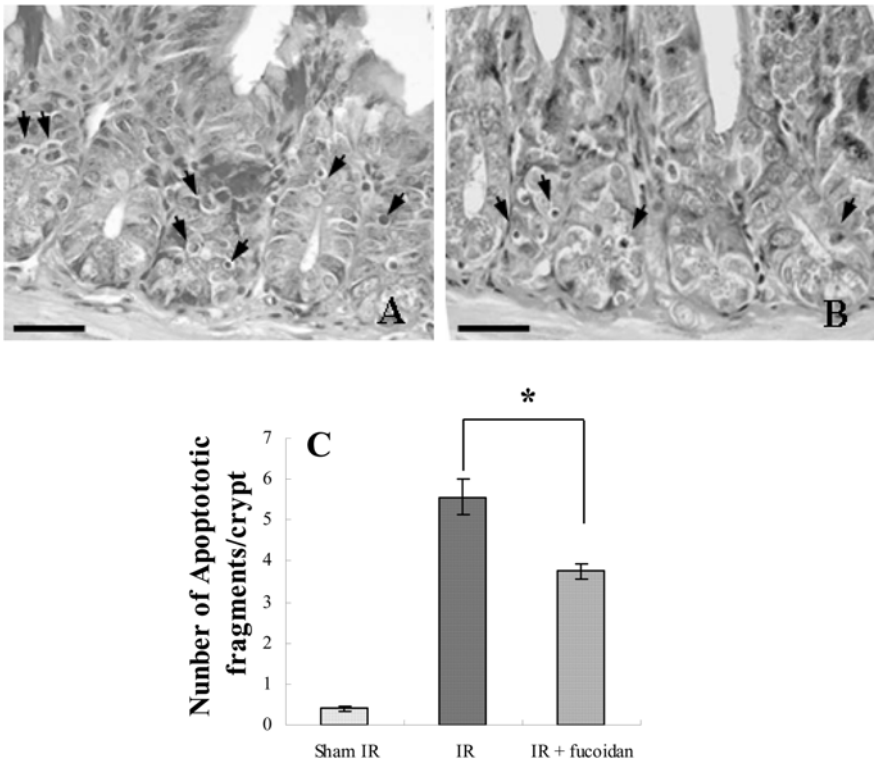

Fig. 4. Morphological classification of typical apoptotic fragments in the small intestinal crypt cells using H&E staining. (A) 2 Gy irradiation, (B) 2 Gy irradiation + fucoidan treatment, (C) the columns indicate the number of apoptotic fragments per small intestinal crypt in each group. Bars = 20.5 μm. The mice were sacrificed at 24 h after 2 Gy gamma-ray irradiation and small intestines were separated. Apoptosis was assessed on the morphological evidence, such as cell shrinkage, chromatin condensation, margination and fragmentation. Values represent means ± SE of 50 crypts section per intestine and 5 small intestine sections per each mouse were recorded ($^{*}p < 0.05$).

지 못하였다고 보고하였다 [12]. 이처럼 fucoidan은 독성이 적고 특별한 부작용을 나타내지 않는다.

방사선 조사는 생체내 말초혈액 및 말초림프기관의 면역세포수를 급격히 감소시킨다. 이에 대한 보상작용으로 면역세포의 재생성이 일어나고, 골수 내의 조혈모세포가 말초림프기관으로 이동하여 증식하게 된다. 이때 비장 내에는 조혈모세포의 증식에 의한 집락이 형성되며, 방사선 조사 후 비장에서 형성된 집락의 수는 조혈모세포의 방호 및 재생성능력의 지표로 사용되고 있다 [20]. 이전 연구에서는 fucoidan을 마우스에 경구투여하면 조혈 줄기세포가 골수에서 혈액으로의 이동이 증가하고 [7], 사람에게 매일 3 g씩 12일간 경구투여 시 말초혈구세포와 줄기세포의 수가 증가한 것을 보고하였다 [11]. 본 연구에서 fucoidan 투여에 의해 비장의 무게와 집락의 수가 증가하였으며, 이는 방사선 조사로 인해 감소한 말초림프기관인 비장내의 면역세포수가 조혈모세포의 증식으로 인해 증가하였기 때문으로 사료된다. 따라서 fucoidan의 투여는 조혈계의 보호 및 회복을 촉진시켜 동물에서 방사선 조사 후 10-15일에 생기는 급성 조혈계 증후군을 막을 수 있을 것으로 사료된다.

Apoptosis에 의한 세포사는 DNA손상에 의한 급성 효과의 결과로서 인식되고 있으며 특히 분화증식능이 높은 세포와 기관에서 쉽게 나타난다 [1]. 분화증식능이 높은 비장은 면역체계에서 매우 중요한 역할을 하는 기관으로 방사선 손상에 민감한 장기로서 방사선 조사에 의한 비장세포의 DNA 손상 정도를 comet assay를 이용하여 파악하는 것은 방사선 조사에 의한 생물학적 영향을 평가하는데 중요한 의의를 갖는다. Comet assay에서 관찰된 tail length, tail movement 및 tail DNA% 등은 DNA 손상의 지표로 활용되고 있는데, 이 지표를 기준으로 하였을 때, fucoidan 병행 투여군이 정상 대조군보다는 높은 수치이지만, 방사선 조사 대조군과 비교하였을 때 세포 손상 즉 DNA 손상의 현저한 억제효과를 나타내었다. 이전 연구에 따르면 다시마로부터 추출한 fucoidan을 쥐에게 투여 하였을 때 항산화 효소를 조절함으로써 항산화 효과를 가진다고 보고하였다 [3]. 따라서 fucoidan이 방사선 조사에 의해 생기는 산화적 자유 라디칼의 발생에 대한 항산화 효과를 가짐으로서 비장세포의 DNA 손상을 효과적으로 억제시키는 것으로 사료된다.

방사선 조사 후에는 면역세포수가 급격히 감소하며, 면역세포의 재생성에 의한 면역세포수의 회복은 방사선 조사 후 회복에 중요한 역할을 한다. 본 연구에서fucoidan은 방사선 조사로 억제된 비장세포의 증식을 촉진하였다. 이는 fucoidan이 면역세포의 증가를 촉진함으로써 방사선에 의해 손상 받은 면역계를 보호할 수 있을 것으로 보인다. 이로써 말초혈액 중 면역세포의 감소에 의한 세균이나 바이러스에 의한 감염을 억제하는 것에 효과적일 것으로 사료된다.

소장움은 방사선에 민감한 재생 조직으로서, 전신피폭 시 위장관계 상피세포들의 손상에 의해 사망에 이르는 위장관계증후군을 일으키기도 한다. 위장관계증구군의 주요 요인은 방사선 조사에 의해 소장, 특히 소장움에서의 세포 수 감소나 세포가 소장움로부터 융모의 끝부분으로 이행하는 속도가 저하되고, 소장점막 상피세포가 탈락하기 때문이다 [4, 16]. 따라서 소장움은 방사선에 의한 산화적 생체손상을 측정하는 대표적인 지표로 이용되어지고 있으며, 방사선에 대한 생체방호에 있어서 소장움 등의 소화기관 재생조직 손상의 억제 및 회복이 중요한 요건의 하나로 받아들여지고 있다. Fucoidan은 방사선 조사에 의한 소장움 세포의 apoptosis를 억제시켜 방사선 장해에 대한 방호 효과를 나타내었다. 이는 fucoidan이 방사선에 의한 위장관계통 장해에 대한 방어 효과를 나타낼 것으로 생각되고 apoptosis와 관련된 질병의 예방과 치료에 적용할 수 있을 것으로 보인다. 하지만 방사선이 조사된 마우스에서 이러한 fucoidan의 방사선 방어 효과와 관련된 기전은 아직 밝혀져 있지 않아 향후 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구는 fucoidan의 방사선 장해 경감 효과를 알아보기 위하여 방사선을 조사한 마우스에서 면역조혈계와 위장관의 방호 능력을 관찰하였다. Fucoidan의 투여는 방사선 조사 대조군에 비해 내재성 비장 조혈 집락 형성을 촉진시켰고, 비장세포의 DNA 손상을 억제와 함께 증식률을 증대시켰다. 뿐만 아니라 fucoidan은 방사선에 민감한 소장움세포의 apoptosis를 억제시킴으로써 방사선에 대한 저항성을 증가시킨다는 것을 확인하였다. 이상의 결과는 fucoidan이 방사선 조사로 인한 부작용인 위장관계통의 장해나 조혈기 장해에 대항하여 방사선 방어제로서의 임상적 활용 가능성을 가질 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구 조성사업비)으로 학술진흥재단(KRF-2006-003-E00366)과 과학기술부의 원자력연구개발사업(BAERI)의 연구비 지원을 받아 연구되었음.

참고문헌

1. 김세라, 오헌, 이해준, 신동호, 김종춘, 박인철, 오기

석, 조성기, 김성호. 고선량 및 저선량 방사선 조사 마우스에서 누에동충하초 (*Paecilomyces japonica*)의 효과. 대한수의학회지 2003, **42**, 181-188.

2. **박상준, 정규식, 김태환, 임윤규, 박현정, Pham Duc Chuong, 지영흔.** 마우스 소장 crypt cell에서 방사선 조사에 의해 유도된 apoptosis의 조절. 한국실험동물학회지 2004, **20**, 218-223.
3. **정일윤.** 프로폴리스에서 분리한 플라보노이드 화합물의 항산화 활성 및 방사선 방어효과. 한국식품영양과학회지 2005, **34**, 162-166.
4. **조성기, 박혜란, 정우희, 오헌, 김성호, 이성태.** 방사선에 대한 생약복합조성물(HemoHIM)의 재생조직 및 면역계 방호 · 회복촉진 효과. 한국식품영양과학회지 2005, **34**, 805-813.
5. **Aisa Y, Miyakawa Y, Nakazato T, Shibata H, Saito K, Ikeda Y, Kizaki M.** Fucoidan induces apoptosis of human HS-sultan cells accompanied by activation of caspase-3 and down-regulation of ERK pathways. Am J Hematol 2005, **78**, 7-14.
6. **Bogo V, Jacobs AJ, Weiss JF.** Behavioral Toxicity and efficacy of WR-2721 as a radioprotectant. Radiat Res 1985, **104**, 182-190.
7. **Frenette PS, Weiss L.** Sulfated glycans induce rapid hematopoietic progenitor cell mobilization: evidence for selectin-dependent and independent mechanisms. Blood 2000, **96**, 2460-2468.
8. **Gandhi NM, Gopalaswamy UV, Nair CK.** Radiation protection by disulfiram: protection of membrane and DNA *in vitro* and *in vivo* against gamma-radiation. J Radiat Res (Tokyo) 2003, **44**, 255-259.
9. **Halliwell B, Gutteridge JM.** Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. pp. 604-607, Oxford University Press, Oxford, 1999.
10. **Hendry JH, Robert SA, Potten CS.** The clonogen content of murine intestinal crypts: dependence on radiation dose used in its determination. Radiat Res 1992, **132**, 115-119.
11. **Irhimeh MR, Fitton JH, Lowenthal RM.** Fucoidan ingestion increases the expression of CXCR4 on human CD34+ cells. Exp Hematol 2007, **35**, 989-994.
12. **Irhimeh MR, Fitton JH, Lowenthal RM, Kongtawelert P.** A quantitative method to detect fucoidan in human plasma using a novel antibody. Methods Find Exp Clin Pharmacol 2005, **27**, 705-710.
13. **Itoh H, Noda H, Amano H, Zhuaug C, Mizuno T, Ito H.** Antitumor activity and immunological properties of marine algal polysaccharides, especially fucoidan, prepared from *Sargassum thunbergii* of Phaeophyceae. Anticancer Res 1993, **13**, 2045-2052.
14. **Li N, Zhang Q, Song J.** Toxicological evaluation of fucoidan extracted from Laminaria japonica in Wistar rats. Food Chem Toxicol 2005, **43**, 421-426.
15. **MacVittie TJ, Monroy RL, Patchen ML, Souza LM.** Therapeutic use of recombinant human G-CSF (rhG-CSF) in a canine model of sublethal and lethal whole-body irradiation. Int J Radiat Biol 1990, **57**, 723-736.
16. **Milas L, Hunter N, Ito H, Peters LJ.** *In vivo* radioprotective activities of diethyldithiocarbamate (DDC). Int J Radiat Oncol Biol Phys 1984, **10**, 2335-2343.
17. **Neta R**. Role of cytokines in radioprotection. Pharmacol Ther 1988, **39**, 261-266.
18. **Neta R, Douches S, Oppenheim JJ.** Interleukin 1 is a radioprotector. J Immunol 1986, **136**, 2483-2485.
19. **Ponce NM, Pujol CA, Damonte EB, Flores ML, Stortz CA.** Fucoidans from the brown seaweed Adenocystis utricularis: extraction methods, antiviral activity and structural studies. Carbohydr Res 2003, **338**, 153-165.
20. **Talmadge JE, Tribble H, Pennington R, Bowersox O, Schneider MA, Castelli P, Black PL, Abe F.** Protective, restorative, and therapeutic properties of recombinant colony-stimulating factors. Blood 1989, **73**, 2093-2103.
21. **Utley JF, Phillips TL, Kane LJ.** Protection of normal tissues by WR2721 during fractionated irradiation. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1976, **1**, 699-703.