

---

# 알긴산올리고당 처치 마우스에서 방사선 유도 산화질소의 변화

## Change of the Radiation-induced NO(nitric oxide) in Mice with Treatment by Algin-oligosaccharide

---

장우영, 최성관, 동경래  
광주보건대학 방사선과

Woo-Young Jang(jwy3450@naver.com), Seong-Kwan Choi(cskpass@nate.com),  
Kyung-Rae Dong(krdong@hanmail.net)

---

### 요약

본 연구에서는 알긴산올리고당의 일부 방사선 방어효과를 규명하기 위해 마우스에 3 Gy 선량의 방사선을 1회 전신 조사하여 방사선 유도 nitric oxide를 측정하였다.

측정결과 방사선조사 대조군에서 nitric oxide 생성이 하강된 반면, 방사선조사 전 3일간 처치군 및 방사선조사 후 3일간 처치군에서 유의한 생성 증가를 보였고, 특히 방사선조사 전 3일간 처치군에서 가장 큰 차이를 보였다( $P<0.001$ ).

결론적으로, 항산화효과가 탁월한 알긴산올리고당은 nitric oxide의 생성 증가를 촉진시킴으로써 일부 방사선 방어작용을 수행한다는 사실을 규명하였고, 화학적 독성이 적은 자연산생물이 방사선방어제로 활용될 수 있음을 확인하였다.

■ 중심어 : | 방사선 유도 nitric oxide | 알긴산올리고당 |

### Abstract

In order to find out the radioprotective effect of algin-oligosaccharide, this study, with a mouse of which whole body irradiated by 3 Gy radiation once, measured nitric oxide.

In nitric oxide test for observing the reaction of cell inflammation, nitric oxide showed decreased in the irradiation control group, while 3 day's treatment group with algin-oligosaccharide before or after irradiation indicated higher than the irradiation control group, especially showed big difference in 3 day's treatment group before irradiation ( $P<0.001$ ).

Consequently, this study inquired into the fact that algin-oligosaccharide with superior antioxidant activity performed radiation protection by increasing promotion of nitric oxide generation and confirmed that natural product with less chemical toxicity was able to be applied as radioprotector.

■ keyword : | Radiation-induced Nitric Oxide | Algin-oligosaccharide |

---

## I. 서론

전리방사선은 특정한 수산기(hydroxyl radical)에서

추출되어지는 산소 유리기(free radical)의 발생을 통하여 독성효과 대부분의 영향을 미친다[1]. 즉, 전리방사선을 세포에 조사하였을 때 발생하는 장애는 주로 free

접수번호 : #090406-005

접수일자 : 2009년 04월 06일

심사완료일 : 2009년 06월 05일

교신저자 : 최성관, e-mail : cskpass@nate.com

radical에 의한 화학적 반응으로써 세포 내 DNA 전구 물질의 흡수를 방해하여 DNA 형성을 억제하고, 염색체에 직접적인 손상을 주어 변성을 일으키는 것으로 알려져 있다[2]. 전리방사선 중에서 의학적 내지는 산업적으로 가장 흔히 이용되고 있는 X선이나  $\gamma$ 선 같은 전자기적 방사선은 중성자선이나  $\alpha$ 선과 같은 고에너지부여 방사선처럼 치명적이진 않지만 free radical 생성을 통해 OH $\cdot$ , HO $_2\cdot$ , RO $_2\cdot$ , O $_2\cdot$  등과 같은 활성산소를 만들어냄으로써 여러 가지 생물학적 장애를 유발시킨다[3].

인간의 경우 방사선피폭으로 인한 장애를 예방하려면 방사선조사 전이나 후에 적절한 방사선 보호제의 처치를 받아야 한다. 하지만 대부분의 방사선 보호약제는 강한 독성이 수반되는 화학제제로서 상시복용이 어려울 뿐만 아니라 일반인들의 구입 접근성이 떨어져 방사선장해에 대한 효과적인 방어수단이 될 수 없다. 따라서 알긴산올리고당과 같이 인체 건강에 유해하지 않으면서 일반인 누구나가 자유롭게 상시복용이 가능한 자연산생물의 방사선 방어효과에 관한 연구가 그 어느 때보다 필요한 실정이다.

방사선을 조사시키기 전이나 후에 생물체에 적당한 처리를 하여 방사선장해를 경감시키는 물질을 방사선 방어제(radioprotector)라고 한다. 이 물질들은 방사선조사 전 처리의 필요조건이 되는 보호와 조사 후 처리로서 유효한 수복의 두 가지 기능으로 분류된다. 방사선방어제 중 화학적 독성이 적어서 상시복용이 가능한 자연생약 보호제로는 인삼[2], 홍삼[4], 녹차의 주요 카테킨 성분인 EGCG(epigallocatechin gallate)[5][6], vitamin C, vitamin E[7][8] 등이 있다. 인삼 추출물의 경우 투여시간에 따라 세포 회복능과 생존율이 큰 영향을 받았으며 최고의 방어효과는 방사선조사 24시간 전 투여하였을 경우였고, 고분자화합물의 경우에는 방사선조사 1~3일 이전에 투여하였을 경우 최대의 방어효과를 나타내는 것으로 보고되었다[3].

알긴산(alginic acid)은 미역이나 다시마 같은 해조류의 세포막을 구성하는 성분으로서 해조산이라고도 불린다. 주성분은 무수-1,4- $\beta$ -D-만류론산(anhydro- $\beta$ -D-mannuronic acid)이나 일부 글루루론산(glucuronic acid)이 섞여 있고, 나머지는 Na염(Na, K, Ca, Mg 등)

이 대부분이다[9]. 알긴산은 활성산소의 일종인 free radical이나 과산화지질의 생성을 억제하고 혈액 세정 작용을 시행하는 기능을 가지고 있다[10]. 특히 이러한 작용기전은 생체에 방사선조사가 이루어질 때 물리적·화학적 작용에 의해 급격히 생성되는 free radical을 소거시킴으로써 방사선장해가 발현되지 않도록 예방해 줌은 물론, 알긴산이 방사선으로부터 인간의 건강을 지키는 중요한 방어제로 활용될 수 있음을 가능케 해준다. 하지만 알긴산 자체는 사람을 비롯한 포유동물 소화기관에서의 소화율이 매우 낮고, 따라서 알긴산 성분의 조직 흡수율을 높이기 위해서는 알긴산으로부터 다시 알긴산올리고당(algin-oligosaccharide)을 추출하여 사용해야 한다[11].

Nitric oxide는 질소(N)원자 1개와 산소(O)원자 1개로 구성된 분자로서, 세포에서 생성된 후 다른 세포막을 투과해 그 세포의 염증반응을 제어함으로써 감염에 대항하는 면역조절기능을 수행한다[12]. 또한 nitric oxide는 방사선이나 자외선 등의 피폭 시에 생체의 많은 조직에서 유도되어 생체를 보호하는 역할을 수행하고, 해조류 중 하나인 김(red seaweed) 추출물을 투여할 경우 NF-kB 단백질의 활성을 통해 nitric oxide 형성을 촉진함으로써 생체를 방어하는 기능을 수행하기도 한다[13].

본 연구의 목적은 미역이나 다시마 등의 해조류에서 추출한 알긴산올리고당이 방사선조사 마우스의 조직 내에 nitric oxide 생성을 어느 정도 촉진시키는 지를 알아봄으로써 해조류에 대한 일부 방사선 방어효과를 규명하는데 있다. 이를 위해 알긴산올리고당 처치 마우스에 3 Gy 선량의 방사선을 1회 전신 조사하여 nitric oxide를 측정하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1.1 실험동물

실험동물은 다물실험동물센터(한국)에서 생산, 공급한 C57BL/6 마우스(체중 25~35 g)를 사용하였고, 6개

의 실험그룹에 각각 7마리씩 총 42마리를 적용하였다. 마우스는 온도 23±2℃, 습도 45±5%로 유지된 사육실에서 폴리카보네이트로 제작된 사육장(40×25×17 cm)을 통해 사육하였으며, 사료(제일제당 제품)와 음수는 자유롭게 섭취시켰다.

1.2 시료

시료는 국내 (주)EcoBio에서 수입하여 공급한 알긴산올리고당(Sigma, USA)을 사용하였다.

1.3 방사선조사장치

방사선조사장치는 10 MeV급 Linac(선형가속) X선 암치료장치 (Clinac 21Ex, Varian, 2004년식)를 사용하였다.

2. 실험그룹 분류

실험그룹은 정상군, 방사선조사대조군, 방사선조사 전 7일간 처치군, 방사선조사 전 3일간 처치군, 방사선조사 후 3일간 처치군, 방사선조사 후 7일간 처치군 등 총 6개 그룹으로 나누었다[표 1].

표 1. 실험그룹의 분류

실험그룹	
제 1그룹	정상군
제 2그룹	방사선조사 대조군
제 3그룹	방사선조사 전 7일간 처치군
제 4그룹	방사선조사 전 3일간 처치군
제 5그룹	방사선조사 후 3일간 처치군
제 6그룹	방사선조사 후 7일간 처치군

3. 실험방법

3.1 방사선조사

정상군을 제외한 전체 실험그룹의 마우스에 10 MeV 급 Linac 방사선장치를 사용하여 300 cGy/min 선량률로 총 3 Gy의 선량을 1회 전신 조사하였다. 방사선조사는 특별한 통증을 수반하지 않기 때문에 실험동물에 마취를 실시하지 않았고, 별도의 방사선 투과성 용기를 통해 실험그룹을 구획하여 각 실험그룹별 전체 마우스에 동시에 방사선을 조사하였다.

3.2 시료투여

시료는 체중 25~35 g의 실험 마우스에 매일 체중 1 kg당 5 mg 기준에 의해 구강주입기를 통한 경구주입방식으로 투여하였다.

3.3 실험동물 희생 및 실험조직 채취

실험동물의 희생은 경추탈구법을 이용하였다. 실험조직은 방사선감수성이 높고 생명유지에 필수적이며 시료 소화작용에 직접 관여하는 조직인 소장(small intestine)과 간(liver)을 적용하였고, 희생 직후 소장과 간 조직 전체를 채취하여 사용하였다.

실험동물은 헬싱키선언의 취지에 따라 인류의 건강을 증진하고 보호하기 위한 목적으로 사용하였고, 실험이 진행되는 전체기간 동안 실험동물의 최적 복지환경을 조성하기 위한 노력을 다하였다.

3.4 Nitric oxide의 측정

채취한 소장 및 간 조직 전체를 lysis buffer를 이용하여 완전 용해한 후 nitric oxide를 측정하였다. 소장과 간 조직에서 생성된 nitric oxide의 양은 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 형태로 Griess 시약을 이용하여 측정하였다. 상층액을 96 well plate에 각각 분주한 후 Griess reagent (0.8% sulfanilamide/0.75 % N-(naphthylethylene) diamine in 0.5N HCl, Sigma) 100 µL를 첨가하였다. 15분간 실온에서 방치한 후, 540 nm 파장에서 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)을 이용하여 nitrite 농도를 측정하였고, Sodium nitrate (0.5~100 M)를 nitrite 표준으로 이용하였다.

4. 통계처리

각 실험결과는 평균 및 표준편차 (Mean±S.D.)로 표시하였고, 각 실험그룹간의 유의성 검정은 SPSS 10.1 통계프로그램을 통한 ANOVA를 실시하였으며, 각 실험그룹간의 다중비교를 위한 사후검정으로서 Tukey-test를 실시하였다. 아울러 통계적 검정은 유의수준 α = 0.05 수준으로 처리하였다.

### III. 결 과

#### 1. 소장(small intestine) 조직에서의 nitric oxide

알긴산올리고당 처치 마우스에 방사선을 조사하여 소장 조직에 대한 nitric oxide를 관찰하였다. 방사선조사 대조군의 1.70±0.068과 비교하여 볼 때 방사선조사 전 3일간 처치군이 3.36±0.322로 나타나 평균값에 매우 유의한 차이를 보였고(P<0.001), 방사선조사 후 3일간 처치군도 2.26±0.331로서 유의한 차이를 보였다(P<0.05)[표 2][그림 1].

표 2. 소장 조직에서의 nitric oxide 생성 정도  
(unit : nM/μg protein)

그룹	nitric oxide (mean±S.D.)	
정상군	6.02±0.409	
방사선조사 대조군	1.70±0.068	
방사선조사 전 7일간 처치군	1.25±0.086	
방사선조사 전 3일간 처치군	3.36±0.322	***
방사선조사 후 3일간 처치군	2.26±0.331	*
방사선조사 후 7일간 처치군	1.88±0.477	

\*\*\*p<0.001 (방사선조사 대조군 대비 유의확률)  
\*p<0.05 (방사선조사 대조군 대비 유의확률)

■ NO(nitric oxide) in small intestine tissue

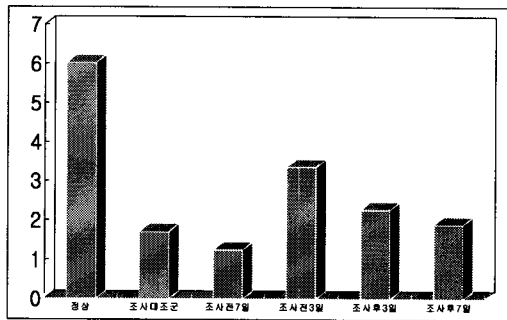


그림 1. 소장 조직에서의 nitric oxide 생성 정도.

방사선조사 대조군과 비교할 때 방사선조사 전 3일간 처치군에서 가장 높은 생성률을 보이고 있다.

#### 2. 간(liver) 조직에서의 nitric oxide

알긴산올리고당 처치 마우스에 방사선을 조사하여 간 조직에 대한 nitric oxide를 관찰하였다. 방사선조사

대조군의 2.31±0.246과 비교하여 볼 때 방사선조사 전 3일간 처치군이 2.74±0.110으로 나타나 평균값의 유의한 차이를 보였다(P<0.05)[표 3][그림 2].

표 3. 간 조직에서의 nitric oxide 생성 정도  
(unit : nM/μg protein)

그룹	Nitric Oxide (mean±S.D.)	
정상군	3.02±0.167	
방사선조사 대조군	2.31±0.246	
방사선조사 전 7일간 처치군	2.09±0.088	
방사선조사 전 3일간 처치군	2.74±0.110	*
방사선조사 후 3일간 처치군	2.15±0.140	
방사선조사 후 7일간 처치군	2.26±0.100	

\*p<0.05 (방사선조사 대조군 대비 유의확률)

■ NO(nitric oxide) in liver tissue

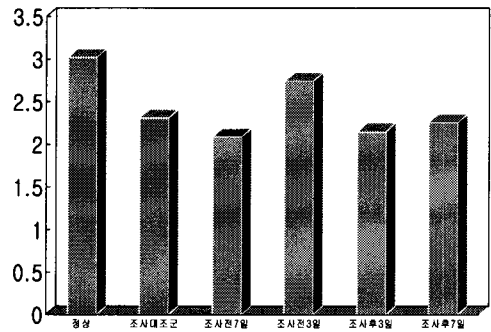


그림 2. 간 조직에서의 nitric oxide 생성 정도.

방사선조사 대조군과 비교할 때 방사선조사 전 3일간 처치군에서 가장 높은 생성률을 보이고 있다.

### IV. 고 찰

알긴산올리고당은 항산화제 기능으로서 작용하여 각종 자극으로부터 발생한 활성산소와 free radical을 소거시키는 기전을 가지고 있는 것으로 알려져 있고 [10][14], 이를 방사선조사 전이나 후에 적절히 처치할 경우 감염 대항 면역조절인자인 nitric oxide 생성을 촉진하거나 [12] 악성 free radical을 제거시킴으로써 생체에 대한 보호기능을 수행한다 [10].

Nitric oxide와 관련하여 Sethi 등(2004)은 자외선 피폭(50 mJ/cm)을 받은 마우스를 통해 복막 대식세포의 활성화가 nitric oxide의 생성을 촉진시키고 자외선조사 후 24시간째에 최고점에 이른다는 사실을 보고했으며 [15], Nakagawa 등(2001)은 마우스 전신피폭의 경우 전리방사선에 의해 nitric oxide가 많은 기관에서 유도된다고 밝혔다[16]. 본 연구에서는 3Gy 방사선이 조사된 마우스에 알긴산올리고당을 투여한 후 nitric oxide를 관찰하였는데, 소장 및 간 조직 모두 방사선조사 대조군에서 nitric oxide 생성이 하강된 반면, 방사선조사 전 3일간 알긴산올리고당 처치군의 소장 조직에서는 방사선조사 대조군보다 약 2배의 생성 증가를 보였다 ( $P < 0.001$ ). 이는 알긴산올리고당이 항산화효과를 발생 시킴으로써 첫째, 방사선조사로 생성된 free radical의 일종인 과산화라디칼( $ROO \cdot$ )이 보다 활성이 약화된 하이드로퍼옥사이드(hydroperoxide, ROOH)로 전환되었고 둘째, 방사선조사에 의해 산화의 단초를 제공했던 free radical( $R \cdot$ )이 신선한 유지(RH)로 전환되었으며 셋째, free radical 제거물질인 superoxide dismutase(SOD)가 발현되어 방사선조사로 생성된 활성산소(reduced oxygen species, ROS)를 제거한 것으로 사료된다[17][18].

방사선 보호약제의 생체방어에 대한 최적 효과기는 endotoxin, BCG, *Corynebacterium parvum* 등의 경우 방사선조사 20~24시간 전에, 인삼 추출물의 경우 방사선조사 24시간 전에 그리고 기타 고분자화합물의 경우 방사선조사 1~3일 전에 투여하였을 때 나타났는데[3], 본 연구의 시료인 알긴산올리고당은 방사선조사 3일 전인 것으로 조사되었다. 자연산생물에서 추출되어 화학적 독성이 적은 알긴산올리고당이 단순히 장기간 복용할수록 몸에 유익한 건강보조식품이 아니라 방사선 보호약제로서 기능하기 위해서는 방사선조사 생체에 대한 알긴산올리고당 특유의 효소유도활성 대사작용이 최고조에 이르는 최적 효과기가 존재한다[19]. 본 연구 결과에 의하면 알긴산올리고당이 nitric oxide의 생성증가를 유도하는 데에는 방사선조사 7일 전부터 처치하는 것보다 3일 전 시점부터 처치하는 것이 보다 더 효과적이라고 결론지을 수 있다.

## V. 결 론

알긴산올리고당이 방사선조사 마우스의 조직 내에 nitric oxide 생성을 어느 정도 촉진시키는 지를 알아봄으로써 해조류에 대한 일부 방사선 방어효과를 규명해 보기 위해 정상군 7마리, 방사선조사 대조군 7마리, 방사선조사 전 7일간 처치군 7마리, 방사선조사 전 3일간 처치군 7마리, 방사선조사 후 3일간 처치군 7마리, 방사선조사 후 7일간 처치군 7마리 등 총 42마리의 마우스를 대상으로 3Gy 선량의 방사선을 조사하여 소장 및 간 조직에 대한 nitric oxide를 측정하였다.

그 결과 소장 및 간 조직 모두 방사선조사 대조군에서 nitric oxide 생성이 하강된 반면, 소장 및 간 조직의 방사선조사 전 3일간 처치군 및 소장 조직의 방사선조사 후 3일간 처치군에서 유의한 생성 증가를 보였고, 이로써 알긴산올리고당이 nitric oxide 생성을 상승시킴을 확인하였다.

결론적으로, 항산화효과가 탁월한 알긴산올리고당은 nitric oxide의 생성 증가를 유도함으로써 일부 방사선 방어작용을 수행할 수 있다는 가능성을 규명하였고, 화학적 독성이 적은 자연산생물이 방사선방어제로 활용될 수 있음을 확인하였다.

## 참 고 문 헌

- [1] 유병규, 박준철, “번데기 동충하초 추출물의 방사선 방호효과에 대한 효소 활성도 및 수용성 단백질 양상 분석”, 대한방사선기술학회지, 제24권, 제1호, pp.75-82, 2001.
- [2] 이해준, “마우스에서 인삼의 방사선 장해 경감 효과 평가에 관한 형태학적 연구”, 수의학박사학위논문, 전남대학교, 2005.
- [3] 송지영, “인삼과 백굴채 다당체의 조혈 및 방사선 방어 효과”, 박사학위논문, 이화대학교, 1999.
- [4] 김성호, 오현, 이승은, 양정아, 정용운, “고선량 및 저선량 방사선피폭에 대한 홍삼의 방사선 방호효과”, Korean J. Ginseng Sci, Vol.22, No1, p.67,

1998.

[5] 정진호, "사람의 피부에서 녹차 EGCG의 자외선에 의한 피부 손상 및 노화 억제 효과", 한국식품과학회 국제녹차심포지엄, pp.3-8, 2001.

[6] 탁우정, 이창균, 서성준, 김명남, 노병인, 홍창권, "HaCaT 세포주에서 epigallocatechin-3-gallate (EGCG)가 자외선 및 LPS에 의한 iNOS mRNA 발현 및 NO 생성에 미치는 영향", 대한피부과학회지, Vol.42, No.1, pp.37-46, 2004.

[7] KARP, Proceeding of the Korean Association for Radiation Protection, November, pp.3-4, 2000.

[8] KARP, Proceeding of the Korean Association for Radiation Protection, pp.1-2, 2001(11).

[9] 하정욱, 이승철, 백현동, 박우포, *식품화학*, 두양출판사, p.79, 2007.

[10] 조영수, 차재영, *기능성 식품학*, 동아대학교출판부, pp.195-196, 2005.

[11] 하정욱, 이승철, 백현동, 박우포, *식품화학*, 두양출판사, pp.539-540, 2007.

[12] 조성경, "Nitric Oxide의 면역반응 조절 기능", 의학박사학위논문, 원광대학교, 1993.

[13] 안미정, 박달수, 양원형, 고경민, 김형민, 현진원, 박재우, 신태윤, "김의 에탄올 추출물의 생쥐 대식세포주 RAW 264.7 세포에서의 산화질소와 종양괴사인자-알파 생성 작용에 관한 연구", *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, Vol. 7, No 4, pp.341-347, 2008.

[14] 배영훈, 안태훈, 임성철, 박석천, 이재창, 강남현, 배춘식, "토끼의 관절병증에 미치는 알긴산올리고당의 치료효과", *대한수의학회지*, Vol.42, No.2, pp.153-162, 2002.

[15] G. Sethi and A. Sodhi, "In vitro activation of murine peritoneal macrophages by ultraviolet B radiation: upregulation of CD18, production of NO, proinflammatory cytokines and a signal transduction pathway," *Molecular Immunology* 40, pp.1315-1323, 2004.

[16] H. Nakagawa, N. Ikota, T. Ozawa, and Y. Kotake, "Dose- and time-dependence of radiation-induced nitric oxide formation in mice as quantified with electron paramagnetic resonance," *Nitric Oxide*, Vol.5, No.1, pp.47-52, 2001.

[17] 하정욱, 이승철, 백현동, 박우포, *식품화학*, 두양출판사, pp.144-149, 2007.

[18] 김정삼, "생쥐에서 키토산올리고당의 감마선조사에 대한 예방 효과", 박사학위논문, 조선대학교, 2003.

[19] 은종영, 김경완, 박애경, 박혜숙, 이정수, 정명실, *최신 약리학*, 현문사, pp.34-35, 2005.

저자 소개

장우영(Woo-Young Jang)

준회원



- 2009년 2월 : 광주보건대학 방사선과 졸업
- 2009년 5월 ~ 현재 : 광주보훈병원 방사선사

<관심분야> : 방사선보건, 방사선영상기술

최성관(Seong-Kwan Choi)

정회원



- 1998년 8월 : 순천대학교 행정대학원(행정학석사)
- 2007년 2월 : 조선대학교 대학원 보건학과(보건학박사)
- 2008년 3월 ~ 현재 : 광주보건대 방사선과 교수

<관심분야> : 방사선생물과학, 방사선보건

동 경 래(Kyung-Rae Dong)

종신회원



- 2003년 2월 : 연세대학교 산업보건학과(보건학석사)
- 2007년 2월 : 조선대학교 대학원 원자력공학과(박사수료)
- 2008년 3월 ~ 현재 : 광주보건대 방사선과 교수

<관심분야> : 핵의학, 원자력, 방사선계측