

## Vitamin C가 방사선과 Aflatoxin B<sub>1</sub>을 투여한 흰쥐의 간 기능 효소 활성 및 간 손상에 미치는 효과

\*강진순

한국국제대학교 식품과학부

### The Effects of Vitamin C on the Activity of Liver Enzymes and Hepatic Damage in Rats Treated with Radiation and Aflatoxin B<sub>1</sub>

\*Jin-Soon Kang

School of Food Science, International University of Korea, Gyeongnam 660-759, Korea

#### Abstract

This study was conducted to determine the effects of vitamin C on the activity of liver function enzymes and electromicrographic changes in white rats treated with aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>) or X-ray and AFB<sub>1</sub>. Six week-old male Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups: a control group, AFB<sub>1</sub> treated group, AFB<sub>1</sub> treated group with vitamin C, X-ray and AFB<sub>1</sub> co-treated group, X-ray and AFB<sub>1</sub> co-treated group with vitamin C. On the first day of the experiment, only one dose of X-rays was exposed to the entire liver at 1,500 cGy. Next, vitamin C was injected at 10 mg/kg body weight by intraperitoneal injection, followed 1 hr later by the administration of 0.4 mg/kg of AFB<sub>1</sub> by intraperitoneal injection. These treatments were then administered every three days over a period of 15 days. On the 16th day of treatments, the animals were sacrificed. Analysis of the activity of the liver function enzymes, GOT, ALK phatase and LDH, in the sera of rats revealed that they were somewhat increased by AFB<sub>1</sub> treatment, X-ray and AFB<sub>1</sub> co-treatment when compared to the control group. Furthermore, the activity of these enzymes decreased in response to administration of vitamin C. Especially, the levels of GOT were remarkably decreased in the AFB<sub>1</sub> treated group treated with vitamin C when compared to the group treated with AFB<sub>1</sub> alone( $p<0.001$ ). Electromicrographic analysis revealed cloudy swelling, necrosis, vesicular degeneration and fat accumulation of hepatocytes in response to treatment with AFB<sub>1</sub> or co-treatment with X-ray and AFB<sub>1</sub>. However, the destruction of hepatic cells was considerably lower in the vitamin C-treated group. These results indicate that vitamin C had ameliorating effects on the hepatic cell damage.

Key words: vitamin C, aflatoxin B<sub>1</sub>, radiation, hepatic cell damage.

#### 서론

Aflatoxin은 *Aspergillus* 속 곰팡이 종류의 2차 대사산물로서 사람이나 가축에 생리적 장애를 일으키는 물질이며, 특히 이미 발암 물질로 알려진 dimethylnitrosamine보다도 약 3,750배의 높은 발암독성 물질로 발표되었다(Wongan & Newbern 1967). Aflatoxin은 발암성 외에도 돌연변이성과 기형발생성

등의 작용을 한다. Aflatoxin을 생성하는 곰팡이 균주의 자연 오염이 용이하기 때문에 일반적인 생활환경에서 발생하기 쉽다. 또한 열에 대하여 저항성이 커서 280~300°C에서 분해되므로 일반적인 가공, 처리 방법으로는 제거하기 힘들기 때문에 위생적으로 더 큰 문제가 되고 있다. 또한 aflatoxin은 땅콩뿐만 아니라 탄수화물이 풍부한 쌀, 보리, 밀 및 옥수수 등에서 주로 생성되기 때문에(Wilson BJ 1978) 곡류를 주식으

\* Corresponding author: Jin-Soon Kang, School of Food Science, International University of Korea, Gyeongnam 660-759, Korea. Tel: +82-55-751-8314, Fax: +82-55-751-8469, E-mail: jskang-8075@hanmail.net

로 하고 있으며 대부분의 사료를 농산물로 의존하고 있는 우리나라의 경우 가장 위험 노출이 많아 식품의 안전성에 대한 연구의 필요성이 점차 대두되고 있으며, 보건 위생상 국민 보건의 차원에서 다루어야 할 매우 중요한 과제이기도 하다. Aflatoxin의 대사는 주로 간에서 일어나는데 간의 탄수화물, 지방, 단백질 대사 활동 억제(Siperstein MD 1970), 간세포막의 불안정성 및 mitochondrial swelling 유발(Bababunmi & Bassir 1972; Doherty & Campbell 1972; Doherty & Campbell 1973), 간의 microsome에서 NADPH 의존성 lipid의 지질과산화반응이 일어나는 산화적 과정을 거치면서 독성을 일으켜 유발하는 간암(Rahimtula 등 1988) 등의 독성작용이 보고되었다. 이러한 대사과정에서는 유전자독성과 세포독성이 발생하는데, 특히 호기성 상태에서는 최종 전자수용체로 산소를 사용하므로 대사과정 중 반응성이 매우 높은 superoxide radical( $\cdot\text{O}_2^-$ )이 생성된다(Moody & Hassan 1982; Chance 등 1979). 이것은 반응성이 아주 강한 파괴적인 물질로 DNA, protein, lipid와 같은 많은 거대 분자들과 반응하고 NADPH-dependent lipid peroxidation을 유발하여 조직들의 손상을 일으키고(Horton & Fairhurst 1987; McCord & Fridovich 1970; Crapo & McCord 1974), 여러 종류의 발암 및 apoptosis와 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Seegers 등 1994). 또한 aflatoxin의 독성 중 하나로 면역결핍 유발이 있는데, 특히 세포면역 결핍을 유발시키고 B형 간염과 함께 co-carcinogen으로 작용하여 원발성 간세포 암을 유발한다는 보고가 있다(Liu 등 1983). 방사선 조사는 치료방사선학에서 악성종양의 치료 방법으로 이용되고 있고, 수술 요법과 더불어 진행된 두경부 영역의 암종 치료에 그 중요성이 더욱 증가되었으며 수술 전, 후에 많은 환자들이 방사선 치료를 받으며, 5년 생존률의 현저한 증가를 보이고 있는 암치료법이다(Rudolph 등 1982). 그러나 방사선 노출로 인한 부작용이 가장 큰 문제이다. 전리 방사선에 노출되면 조사항이나 조직에 따라 감수성의 차이는 있으나 거의 모든 장기에 손상을 초래하며, 특히 조혈기관의 파괴, 면역적격세포(immunocompetent cells)의 수적 감소와 기능의 변화 등으로 강력한 면역저하를 일으키기도 한다(Anderson & Warner 1976). 방사선에 의한 세포손상의 과정은 두 가지로 나눌 수 있다. 방사선이 목표물을 직접 이온화시키는 직접작용과 방사선이 세포내의 원자 또는 분자와의 상호작용을 통해 free radical을 생성하고, 생성된 free radical이 목표물을 손상시키는 간접작용으로 나누어진다(Hall EJ 1994). 인체가 가장 빈번히 접촉하는 종류의 방사선에 의한 손상은 대부분이 간접작용에 의한 것이다. 세포의 70%가 수분으로 구성되어 있으므로 세포에 방사선을 조사하였을 때 방사선과 물분자( $\text{H}_2\text{O}$ )가 반응하여 이온 라디칼을 생성하고 ( $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{O}^+ + e^-$ ), 생성된 이온 라디칼이 또 다른 물분자와 반응하여 반응성이 높은 hydroxy

radical( $\text{OH}^*$ )을 생성하게 된다( $\text{H}_2\text{O}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^*$ ). hydroxy radical은 반응성이 아주 높으며 확산에 의해 주변의 DNA 등의 아주 거대 분자에 산화적 손상을 입혀 DNA strand break를 초래하게 되어 암을 비롯한 여러 가지 질병을 유발한다(Ward JF 1994; Thompson CB 1995). 그러므로 aflatoxin B<sub>1</sub>과 방사선 조사로 인한 독성 유발 기전이 oxygen free radical에 의한 산화적 손상이 원인이라는 관점에서 볼 때 항산화제 투여로 인한 산화 억제작용을 기대할 수 있음에 따라 최근 aflatoxin으로 인한 세포손상 및 암발생과정을 방어할 수 있는 항산화제의 적용에 대한 관심이 높아지고 있다. 그 중 vitamin C는 수용성 항산화제로서 독소를 포함한 여러 가지 promutagen의 산화적 대사 과정을 저해할 수도 있으며, 산화 환원 완충계에서 유해한 free radical을 제거하여 adduct 형성을 저지시켜 항산화 효과를 발휘한다(Sato 등 1990). Vitamin C는 나이트로 화합물(nitrocompound)에 의한 세균에서의 돌연변이를 억제(Guttenplan JB 1977)하고 *Salmonella typhimurium*에서 aflatoxin B<sub>1</sub>으로 인한 돌연변이를 억제시킨다(Raina & Gurtoo 1985). Benedict 등(1980)은 3-methyl-cholanthrene에 의해 시작된 C3H10T $\frac{1}{2}$ Cell의 형태학적 변형을 vitamin C가 억제한다는 것을 처음으로 보고하였고, M. Yasukawa 등(1987)은 vitamin C가 X선을 조사한 세포에서 종양발생을 억제한다는 것을 보고하기도 하였다. 따라서 곡류를 주식으로 하는 우리나라 사람들의 경우 aflatoxin B<sub>1</sub>에 노출되기 쉽고 이들 중 일부는 위, 간, 담도 암과 같은 상복부 암으로 진단되어 간을 포함하는 부위에 대해 방사선 치료를 받을 수 있는 경우를 생각하여 흰쥐에게 aflatoxin B<sub>1</sub> 투여 혹은 방사선과 aflatoxin B<sub>1</sub>을 병합 처리하여 vitamin C가 간독성 유발요인과 연관된 간 기능 효소들의 변화와 전자현미경 실험에 의한 형태학적 관찰을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 사육방법

Sprague Dawley 계통의 생후 6주, 평균무게 150±20 g의 수컷 흰쥐를 대한실험동물센터에서 구입하여 동물 사육장에서 1주일간 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 실내온도 20±5℃, 습도 55~60%를 유지하였으며, 명암주기는 자연채광으로 하고 고형사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험사육기간 중 매일 오전 중에 체중을 측정하고 사료섭취량은 매일 사료전량을 측정하였다.

### 2. 실험군의 구성 및 투여농도 및 용량

실험군은 7군(n=6)으로 나누어 Table 1과 같이 처리하였다. X-ray 조사는 실험 기간 내 단 1회로 실험사육기간 첫 일에

**Table 1. Treatments of experimental animal**

Groups	Content	Injection dose	No. of animals
G1	0.1 M NaHCO <sub>3</sub> + DMSO	a + b	6
G2	0.1 M NaHCO <sub>3</sub> + AFB <sub>1</sub>	b + d	6
G3	AFB <sub>1</sub> + Vitamin C	c + d	6
G4	AFB <sub>1</sub> + X-ray	b + d	6
G5	AFB <sub>1</sub> + X-ray + Vitamin C	c + d	6

a: 0.1 ml of DMSO, b : 0.1 ml of 0.1 M NaHCO<sub>3</sub>,

c: 10 mg/kg of Vt. C(=0.1 ml), d: 0.4 mg/kg of AFB<sub>1</sub>(=0.1 ml).

조사하였고 X-ray 조사 후 vitamin C를 투여하였으며 vitamin C 투여 1시간 후 AFB<sub>1</sub>을 투여하였다. Vitamin C와 AFB<sub>1</sub>은 모두 복강 투여(intraperitoneal injection)로 실험 사육 첫일부터 1회 시작하여 3일에 한번씩, 5회 반복 투여하였으며, 실험 동물 사육기간은 총 15일로 하였다. 대조군인 제 1군의 경우에 용매인 DMSO 0.1 ml, 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> 0.1 ml를 함께 투여하였다. 제 2군의 경우는 아급성용량인 0.1 ml AFB<sub>1</sub>와 용매 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> 0.1 ml를 투여하였으며, 제 3군은 2군에 대한 항산화 비타민의 효과를 보기 위해 0.1 ml의 vitamin C를 투여한 후 2군과 동량의 AFB<sub>1</sub>을 투여하였다. 제 4군은 X-ray 조사 후 0.1 ml의 AFB<sub>1</sub>을 투여하였으며, 제 5군은 4군에 대한 항산화 비타민의 효과를 보기 위해 X-ray 조사 후 0.1 ml의 vitamin C와 동량의 AFB<sub>1</sub>을 투여하였다. 실험동물에 투여된 AFB<sub>1</sub>, vitamin C는 Sigma 제품을 사용하였다.

### 3. 방사선 조사

경상대학교병원 치료방사선과에 설치된 Co-60 Teletherapy unit를 사용하여 방사선 조사를 실시하였다. 흰쥐의 복부 조사 시 움직이지 못하도록 고정시킨 후 방사선 조사하였으며, 방사선은 방출되는 X선을 이용하여 6 Mv 방사선을 1.5 cm 깊이 1,500 cGy(radiation/min) 선량률로 1회 조사하였다.

### 4. 실험동물의 처리

실험사육 최종일에는 7시간 절식시킨 후 ethyl ether를 사용하여 마취시키고 해부하여 실험을 실시하였다. 혈액은 심장에서 채혈하였으며, 간장조직은 50 ml 주사기를 사용하여 차가운 phosphate buffer(PBS, 0.1 M, pH 7.4)를 문맥을 통해 주입하여 혈액을 제거한 다음 적출하여 차가운 PBS에 담가 잔여혈액을 다시 제거한 후 간 무게를 측정하였고, 혈액과 간장조직은 -70°C에 보관하면서 실험을 실행하였다.

### 5. 혈청 속의 Vitamin C 함량 측정

혈액을 심장 채혈법으로 채취한 후 혈액 약 1 ml를 취하여

즉시 보존제인 dithiothreitol(10 mmol/l) 용액 50 µl를 첨가하였다. 4°C, 3,000 × g 원심조건에서 15~20분 동안 혈청을 분리하여 -80°C로 냉동 보관하여 사용하였다. Vitamin C 측정은 ferric acid ion(Fe<sup>3+</sup>)이 산성용액에서 525 nm에서 특징적인 흡광도를 가지는 complex를 형성하기 위해 α, α, -dipyridyl과 coupled된 형태인 ferrous ion (Fe<sup>2+</sup>)으로 환원되는 원리를 이용한 α, α, -dipyridyl method(Margolis 등 1991)에 의해 측정하였다.

### 6. 혈청 속의 간 기능 효소의 활성

혈청에서의 간 기능 효소인 GOT(Glutamic Oxaloacetic Transaminase), GPT(Glutamic Pyruvic Transaminase) 측정은 GOT/GPT kit(Asan, Co)를 사용하였으며, Karmen unit로 나타내었다. LDH(Lactate Dehydrogenase)는 LDH-LQ(Asan, Co)를 사용하여 Wroblewski unit로 나타내었으며, ALK phosphatase는 kind-king 측정법으로 만들어진 New-K-PHOS kit(Asan, Co)를 사용하여 King-Armstrong(K-A) 단위로 나타내었다.

### 7. 전자현미경적 관찰

간 조직을 각각 1~2 mm<sup>3</sup>의 크기로 잘라서 2.5% glutaraldehyde로 전고정한 후 1% osmium tetroxide로 후고정을 하였다. 이때 사용하는 모든 시약은 0.1 M 인산완충용액으로 희석하였으며, 동일한 완충용액으로 세척하였다. 시료를 알콜 농도 상승 순으로(60~100%) 탈수하고 propylene oxide로 조직을 치환시킨 다음 epon 812에 포매하였다. 포매된 조직을 60°C oven에서 24시간 중합시킨 후 초박절기(Ultracut, Reichert-Jung)를 이용하여 초박절편(70 nm)을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 투과전자현미경(Hitachi H-600)으로 75 KV에서 관찰하고 사진 촬영하였다.

### 8. 통계처리

분석 결과의 통계처리는 실험군당 평균치와 표준편차로 표기(mean±S.D.)하고 이들에 대한 통계처리는 SAS(version 6.12 program)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 유의성이 있는 경우 사후 분석으로 다중비교의 하나인 Duncans(1993)의 다중 범위 검증을 실시하여 통계적 차이를 검증하였다. 각 군의 유의성은 p<0.01 수준에서 평가하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 간조직의 무게, 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율

간조직의 무게, 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 간장의 무게는 대조군을 포함한 전군에서 군별 유의적인 차이는 없었다. Park SA(1993)는

**Table 2. Liver weight, food intake, body weight gain and FER of the rats fed the diet for 15 days**

Groups <sup>1)</sup>	Liver weight (g)	Food intake (g)	Body weight gain (g)	FER <sup>2)</sup> (%)
G1	11.17±1.45 <sup>3)NS</sup>	285.51±19.10 <sup>4)a</sup>	49.97±12.55 <sup>5)a</sup>	0.18
G2	11.93±1.62	272.72±27.53 <sup>a</sup>	60.91±10.76 <sup>a</sup>	0.22
G3	11.26±0.92	260.48±10.35 <sup>a</sup>	55.20± 8.09 <sup>a</sup>	0.21
G4	12.09±0.92	204.47±28.14 <sup>b</sup>	12.40± 4.65 <sup>b</sup>	0.06
G5	11.83±0.76	216.76±23.92 <sup>b</sup>	27.54± 8.03 <sup>b</sup>	0.12
P	0.62	0.0000	0.0000	

<sup>1)</sup> Treatments of animals are shown in detail on Table 1,   
<sup>2)</sup> FER= [body weight increased during experimental period(g)/Total food intake during experimental period(g)]×100,   
<sup>3)</sup> NS not significant at  $p<0.01$ , <sup>4)</sup> Mean ± S.D.(standard deviation),   
<sup>5)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at  $p<0.01$ .

CCl<sub>4</sub>로 간독성을 유발시켜 1주일 동안 사육한 흰쥐의 간장의 무게는 정상 쥐가 4.0±0.4 liver/body weight(%)인데 비하여 시험군에서는 4.5±0.3 liver/body weight(%) 증가하였다고 보고하였으며, Bannasch 등(1980)은 간세포 암 초기에 간조직의 국소적 변형에 따라 탄수화물 변화가 일어나 과량의 glycogen과 지질의 축적으로 인해 일시적으로 간 무게가 증가한다고 하였으나 본 연구는 유의적인 차이를 볼 수 없었는데, 이것은 방사선 조사 혹은 AFB<sub>1</sub> 투여로 인해 간세포의 증식 및 비대화가 일어났으나 그 정도는 미미하며 vitamin C가 간세포 증식과 비대화를 억제시키는 것에 영향을 미칠 것이라고 생각된다. 체중증가량은 식이섭취량에 따라 비교적 증감하는 경향이였다. 대조군에 비하여 유의적인 차이가 없었으나 특히 방사선과 AFB<sub>1</sub> 함께 처리한 4군에서 식이 섭취량과 체중이 가장 적은 것으로 보아 시험동물 처리 시 과도한 스트레스가 그 원인으로 작용했을 것으로 생각된다.

**2. 혈청의 비타민 C의 함량**

15일 동안 사육한 후 혈청의 vitamin C 농도를 측정된 결과, Table 3에서 보는 바와 같이 대조군에 비해 각 처리군이 유의적으로 낮았으며( $p<0.01$ ), 대조군을 제외한 전군사이에서의 유의적인 차이는 없었으나 vitamin C를 투여하지 않은

2군보다 vitamin C를 투여한 3, 5군에서 더 vitamin C 농도가 낮은 경향이였다. 이는 방사선 조사와 AFB<sub>1</sub> 투여 시 vitamin C의 흡수를 감소시키거나 대사 전환을 증대시킨 것으로 생각된다. 한편, 대조군을 제외한 전군에서의 유의적인 차이는 없었으나, vitamin C를 투여하지 않은 2군보다 vitamin C를 투여한 3, 5군에서 더 vitamin C 농도가 낮은 것은 방사선 조사와 AFB<sub>1</sub> 투여의 치명적인 산화 stress로 수용액 상에서 free radical이 형성되면서 이에 대응해 vitamin C가 가장 먼저 방어 작용에 사용되어(Mezzetti 등 1995) 일시적으로 소모량이 많아졌을 것으로 여겨진다. 그러나 본 실험과는 달리 정상 흰쥐에게 이틀에 한번씩 2주간 100 mg/100 g 체중 수준으로 과량으로 복강 내 투여한 Im & Lee(1992)의 연구와 흰쥐에게 300 mg/ 100 g 체중 수준으로 과량의 vitamin C를 4주간 경구 투여한 Lee 등(1997)의 연구에서는 대조군에 비해 혈장의 vitamin C 수준이 유의적으로 현저히 높았다고 보고한 것으로 보아 투여된 vitamin C 농도, 기간 및 동물 처리 방법 등에 따라 그 영향을 받는 것으로 생각된다.

**3. 간 기능 효소(Liver Function Enzyme)에 미치는 영향**

Table 4는 방사선 조사와 AFB<sub>1</sub> 투여 시 혈청에서 간 기능 상태를 나타내는 일차적 지표인 GOT, GPT, ALK phatase, LDH의 활성도를 측정된 결과이다. 이 결과에서 GOT, ALK phatase, LDH는 유의적인 차이는 없으나, GPT는 2군에 63.17± 5.64(lu/ l)이었으나 2군에 vitamin C를 투여한 3군에서는 48.17±7.60(lu/ l)로 나타나 25% 정도( $p<0.001$ )의 현저한 감소를 볼 수 있었다. 또한 방사선과 AFB<sub>1</sub> 병합 처리한 4군에 비해 4군에 vitamin C를 투여한 5군은 다소 감소하였다. 이는 투여 일시와 방법은 다르지만 mouse에 AFB<sub>1</sub>을 투여한 Park 등(1990)의 결과와 일치하는 경향이였다. 일반적으로 LDH 수치는 세포 생존가능성과 연관성이 있다고 알려져 있다. 즉, LDH 수치가 세포막 손상 여부를 나타내는 지표로 사용될 수 있다는 의미이다(Del RN. 1992). 그리고 GOT, GPT의 두 효소의 경우 혈청 중 정상치는 낮는데 조직이 광범위하게 파괴되었을 때 많이 방출되므로 심장, 간, 담도질환의 진단, 특히 급성간염의 뚜렷한 진단상의 지표가 되고 있다(Shell 등 1998). Kim 등(1993)의 보고에 의하면 흰쥐에서 방사선 선량을 달리하여 GOT 활성도 변화를 관찰하였는 바 선량률 0.1~2.4 Gy/min일 경우는 활성도를 관찰할 수 없었으나, 3 Gy/min에서

**Table 3. Vitamin C concentration of the serum in each group** (mg/dl)

	G1 <sup>1)</sup>	G2	G3	G4	G5	P
Vitamin C	0.067±0.01 <sup>2)a</sup>	0.011±0.00 <sup>3)b</sup>	0.008±0.01 <sup>b</sup>	0.014±0.01 <sup>b</sup>	0.008±0.02 <sup>b</sup>	0.000

<sup>1)</sup> Treatments of animals are shown in detail on Table 1, <sup>2)</sup> Mean ± S.D.,   
<sup>3)</sup> Values with different superscripts within the same row are significantly different at  $p<0.01$ .

Table 4. Change of the activities of the liver enzymes in rat serum

Groups <sup>1)</sup>	GOT(Iu/ℓ)	GPT(Iu/ℓ)	ALK phosphatase <sup>2)</sup>	LDH <sup>3)</sup>
G1	196.00±50.66 <sup>4)a</sup>	61.00±7.16 <sup>bc5)</sup>	27.33±4.46 <sup>a</sup>	2,205.41±491.79 <sup>a</sup>
G2	206.33±44.78 <sup>a</sup>	63.17±5.64 <sup>bc</sup>	30.99±9.07 <sup>a</sup>	2,255.02±434.74 <sup>a</sup>
G3	191.67±74.38 <sup>a</sup>	48.17±7.60 <sup>c</sup>	31.78±6.38 <sup>a</sup>	1,971.03±527.92 <sup>a</sup>
G4	232.00±42.74 <sup>a</sup>	72.00±9.81 <sup>ab</sup>	38.50±4.31 <sup>a</sup>	2,498.75±782.33 <sup>a</sup>
G5	227.83±95.57 <sup>a</sup>	66.00±7.25 <sup>ab</sup>	29.58±4.25 <sup>a</sup>	2,389.40±669.32 <sup>a</sup>
P	0.774	0.001	0.465	0.449

<sup>1)</sup> Treatments of animals are shown in detail on Table 1, <sup>2)</sup> K-A unit, <sup>3)</sup> Wroblewski unit, <sup>4)</sup> Mean ± S.D.,

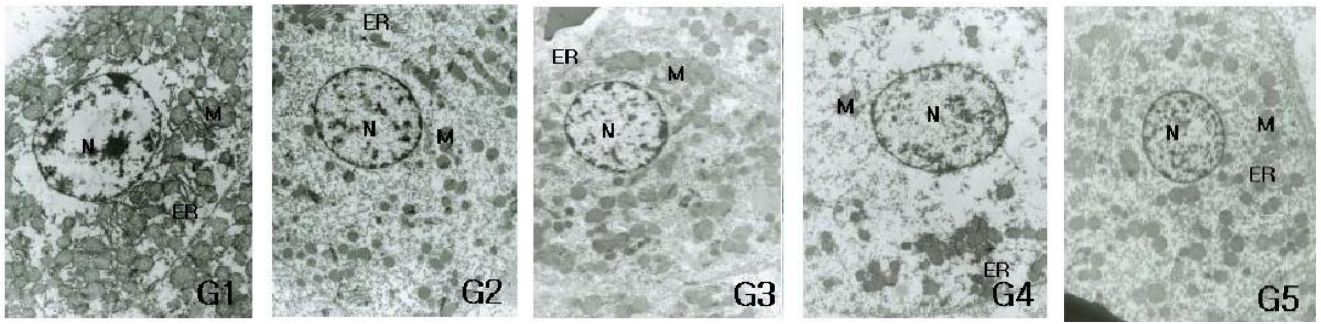
<sup>5)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at  $p < 0.01$ .

는 110%, 3~7 Gy/min에서는 150% 증가하였다고 보고한 바가 있어 전체군에서 유의성을 나타내지 않은 본 실험과는 상이한 결과를 나타낸 것은 체중과 사육기간에 따른 차이인 것으로 생각되며, 본 실험에서도 GPT의 유의적인 차이를 볼 수 있었다. Shen 등(1994)은 AFB<sub>1</sub> 투여 후 시간의 경과에 따라 혈청 중 GOT, GPT 수준을 측정해본 결과, 두 효소 모두 2일째부터 유의하게 증가하였으며, 5일째부터는 극히 저 농도를 유지한다고 하였으며, 본 실험에서는 마지막 AFB<sub>1</sub> 투여 후 3일째에 실험동물들을 해체하였으므로 어느 정도 혈중농도가 상승되었을 때라고 생각된다. 위의 결과에서 AFB<sub>1</sub> 단독 처리군과 방사선과 AFB<sub>1</sub> 병합 처리한 군에서 비교적 GPT, GOT, ALK phatase, LDH 효소가 증가하였다는 것은 liver cell damage를 의미하며, 여기에 vitamin C를 혼합 투여함으로써 그 증가 정도가 억제되었으므로 antioxidantal effect가 나타난 것으로 여겨진다. 이것은 방사선을 조사한 흰쥐의 GOT, GPT, ALK phatase, LDH 수준은 현저히 증가하였으나, vitamin C를 투여함으로써 이들 효소가 감소함으로써 간독성에 따른 vitamin C의 저감 효과를 보고한 Ahn 등(2004)의 보고와 유사한 경향이였다. 그러나 2군에 비해 2군에 vitamin C를 투여한 3군의 GOT 수준이 현저히 감소한 반면, 4군에 비해 4군에 vitamin C를 투여한 5군이 다소 감소한 것은 방사선과 AFB<sub>1</sub> 병합 처리함으로써 심한 조직 손상이 야기된 것으로 생각되며, 이로 인해 vitamin C의 필요성이 더 증가된 것으로 생각된다. 또한 vitamin C의 용량에 따른 항산화 효과의 증가에 대한 논란이 있으므로 (Choi & Yu 1989) vitamin C의 용량별 항산화 효과에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다. 또한 방사선 조사 방법에 있어서 본 연구에서는 1회의 고용량의 방사선을 조사하였으나, 실제 임상에서는 분할조사를 시행하게 되므로 분할 방사선 조사 시에 vitamin C의 항산화 효과가 어떻게 나타는지에 대한 비교연구도 필요하리라 생각된다. Konopacka & Rzeszowska (2001)에 의하면 vitamin C의 투여가 방사선 조사 전과 방사선 조사 후 모두에서 DNA 손상을 회복시키는 효과를 보였으며, 오히려 방사선 조사 직후에 vitamin C를 투여할 때 가장

높은 보호 효과를 보였다고 보고하였다. 그러나 방사선 조사 2시간 이후부터는 vitamin C를 투여하여도 보호 효과를 볼 수 없었으며, 1시간 이내에 투여할 경우에만 보호 효과를 관찰하였다고 보고하였다. 본 실험은 방사선 조사 직후에 바로 vitamin C를 투여하였고, 방사선과 AFB<sub>1</sub> 병합 처리함으로써 이미 세포 손상이 시작되었다고 하더라도 빠른 시간 안에 vitamin C를 투여한 경우이므로 지질 과산화를 억제하여 vitamin C가 방사선과 AFB<sub>1</sub>의 산화성 공격으로부터 어느 정도 세포 손상의 회복 효과를 보인 것으로 생각된다.

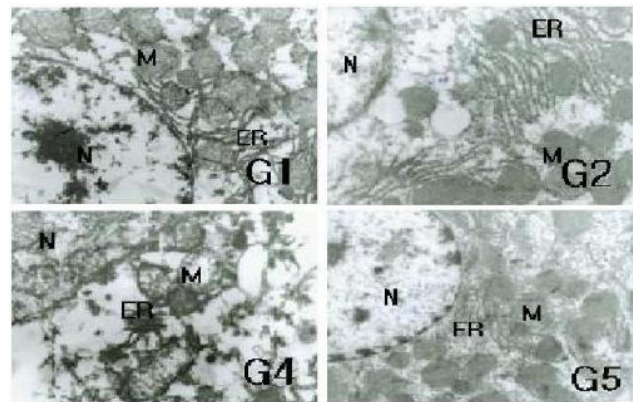
#### 4. 전자현미경(TEM)에 의한 형태적 관찰

방사선과 AFB<sub>1</sub>의 간세포내 축적에 의한 미세구조 변화를 관찰하기 위해 전자현미경적 실험을 수행한 결과, Fig. 1의 G1은 대조군의 세포로서 핵, 핵막이 정상적인 모양을 하고 있으며, 미토콘드리아에서도 규칙적인 크리스테(cristae)가 관찰되었다. 또한 미토콘드리아 주변의 소포체도 전형적인 평행구조를 나타내고 있다. Fig. 1의 G2는 AFB<sub>1</sub> 단독 투여군으로 핵과 핵막이 팽창되어 있으며, 소포체가 긴 막대 모양에서 원형으로 변형되어 나타나고, 미토콘드리아는 크리스테(cristae)가 분열되어 속이 빈 형태를 보여주고 있으며, 지방 과립들이 나타나고 있다. 한편, Fig. 1의 G3은 AFB<sub>1</sub>과 vitamin C 혼합 투여군의 세포로서 핵은 아직 약간 팽창된 모양을 하고 있으나 핵막의 모양이 거의 정상으로 되었으며, 소포체와 미토콘드리아도 거의 정상 모양을 회복하고 있다. 따라서 vitamin C 혼합 투여군(G3)은 AFB<sub>1</sub> 단독 투여군(G2)에 비하여 전체적으로 회복된 상태를 보여주고 있으나, 대조군에 비해서는 어느 정도 독성의 영향을 받은 것으로 나타났다. Fig. 1의 G4는 X선 조사한 후 AFB<sub>1</sub>의 투여한 군으로 조직의 상당한 파괴가 관찰되었으며, 여기에 vitamin C를 투여한 군의 세포(G5)는 정상적이지는 않으나 파괴 정도가 덜 한 것을 관찰할 수 있었다. Fig. 2는 방사선 조사와 AFB<sub>1</sub> 축적에 의한 간세포 내 미토콘드리아의 변형을 관찰하기 위해 고배율로 확대한 사진(26,000×)이다. Fig. 2의 G1은 대조군으로 크리스테 형태가 분



**Fig. 1. Electron micrograph of ultrastructural feature of cell organelles in the liver(7,800×).** Stained with uranyl acetate and lead citrate. M, mitochondria; N, nucleus; ER, rough endoplasmic reticulum, G1: control group, G2: AFB<sub>1</sub> treatment, G3: AFB<sub>1</sub> treatment with vitamin C administration, G4: X-ray and AFB<sub>1</sub> co-treatment, G5: X-ray and AFB<sub>1</sub> co-treatment with vitamin C.

명한 정상적인 미토콘드리아를 보여 주고 있으며, 소포체 역시 원래의 정상적 모양을 유지하고 있으며, Fig. 2의 G2는 AFB<sub>1</sub> 단독 투여군으로 크리스테의 형태가 파괴되어 속이 빈 미토콘드리아 모양을 하고 있고, 정상보다 팽윤된 모양을 보이고 있다. Fig. 2의 G4에서는 보다 많은 조직의 파괴를 관찰할 수 있었다. Fig. 2의 G5는 방사선과 AFB<sub>1</sub> 병합 처리한 것에 vitamin C를 혼합 투여한 군으로 미토콘드리아의 내부가 덜 파괴되었으며, 불분명하지만 크리스테가 나타나며 미토콘드리아의 크기는 정상에 가깝다. 소포체의 모양 역시 완전 정상 상태는 아니지만 X선 처리군이나 AFB<sub>1</sub> 처리군보다 훨씬 파괴 정도가 덜한 것을 보여주고 있다. Fig. 1, 2에서 보는 바와 같이 AFB<sub>1</sub> 투여군의 간세포(G2)에서 전자현미경으로 관찰된 핵막의 팽윤형상은 AFB<sub>1</sub>이 세포내 리소좀의 효소를 방출시켜서 세포막이 불안정하게 된다는 보고(Prokrovsky 등 1992)에 따라 AFB<sub>1</sub>에 의해 야기된 핵막의 불안정성에 기인한다고 생각된다. 또한 AFB<sub>1</sub> 투여군에서 관찰한 미토콘드리아의 팽윤 형상에 대하여 Doherty & Campbell(1973)은 미토콘드리아의 크리스테에 존재하는 시토크롬 b, c, c<sub>1</sub> 사이의 전자 전달반응의 저해로 인해 발생하며, 또한 DNP-inducible ATPase 활성이 저하되어 미토콘드리아가 팽윤한다고 보고했다. 그러나 본 실험에서 나타난 전자현미경적 결과로서는 미토콘드리아의 외형적인 변형만 관찰될 뿐 원인 규명은 생화학적 실험이 더 요구될 것으로 생각된다. 한편, Theron 등(1965)은 AFB<sub>1</sub>은 조면소포체에서 일찍이 리보솜을 탈락시키며, Pong & Wogan(1970)은 조면소포체의 변형과 함께 리보솜이 파괴된다고 보고한 바 있다. 또한 Ibeh 등(1994)은 AFB<sub>1</sub>에 오염된 쥐의 간세포에서 RNA 중합효소의 활성이 억제된다고 보고한 바 있는데, 아마도 ribosomal RNA 생성도 같이 저해되어 조면소포체 형성과 유지에 유해한 영향을 주는 것으로 생각된다. 이에 대한 연구로는 AFB<sub>1</sub>을 투여함으로 aflatoxicosis를 유발한 mouse 간의 전자현미경 조사에서 간세포의 핵과 핵막



**Fig. 2. Electron micrograph of ultrastructural feature of cell organelles in the liver(26,000×).** Stained with uranyl acetate and lead citrate. M, mitochondria; N, nucleus; ER, rough endoplasmic reticulum, G1: control group, G2: AFB<sub>1</sub> treatment, G4: X-ray and AFB<sub>1</sub> co-treatment, G5: X-ray and AFB<sub>1</sub> co-treatment with vitamin C.

이 팽창되어 있으며, 소포체가 긴 막대 모양에서 원형으로 변형되어 나타났고, 미토콘드리아는 크리스테가 분열되어 속이 빈 형태로, 지방 과립의 형성과 혈관 주변의 많은 대식세포와 더불어 콜라겐 섬유 다발들이 모여서 심한 섬유화 현상을 볼 수 있었다는 Park 등(1990)의 보고가 있다. Yang KM(1988)은 흰쥐에 지질과산화반응을 유발한 간세포의 전자현미경조사에서 정상군에 비해서 지방소적, mitochondria의 swelling 및 융합, 그리고 disse강내 microvilli의 파괴가 관찰되었다고 보고하였다. Jung 등(2002)은 흰쥐에 dimethylnitrosamine(DMN)을 주사함으로 간섬유화, collagen의 증가하였으나, 항산화제투여로 인해 DMN에 의한 간섬유화를 효과적으로 억제하였다고 보고하였고 Jo & Kim(1994)은 흰쥐의 간조직에 Gramoxone을 처리함으로 간세포의 혼탁증상, Kupffer 세포의 수 증가, 지방 변화가 현저하였으나, 여기에 vitamin C를 처리함으로써

간세포의 혼탁증상과 지방변화가 현저히 감소하였다고 보고한 바 있다. 이와 같이 본 실험에서도 AFB<sub>1</sub> 단독 투여군인 2군, 방사선과 AFB<sub>1</sub> 병합 처리한 4군에 각각 vitamin C를 투여한 3군과 5군에서 핵과 핵막 등이 정상에 가깝게 회복된 현상을 볼 수 있었는데, 이는 vitamin C의 항산화력에 의해 세포막 표면에 형성된 틈(nick)이나 팽창상태가 가역적이고 반복적인 결합이 유도되어 핵과 핵막이 많이 회복된 것을 관찰할 수 있었다. 또한 Ahn 등(2004)은 흰쥐에 방사선 조사 시 핵과 핵막이 팽창되어 있으며 소포체가 변형되어 나타나고, 미토콘드리아의 감소와 파괴가 관찰되었다고 보고하였으며, Noh 등(2001)은 방사선 조사 시 피부나 폐, 간, 신장 등의 섬유화는 matrix metalloproteinase 및 tissue inhibitor of metalloproteinase 유전자 활성화 및 발현이 조직의 재구성 손상, 암세포의 침윤과 전이에 관여한다고 보고하였다. 이런 결과들은 방사선 조사 시 생성된 superoxide radical은 간세포막의 불포화 지방산을 lipoperoxide로 변성시키며, 이는 조직 내에서 연쇄반응을 일으켜 비가역성의 lipoperoxide의 양을 증가시켜, 생체 구성 단백질, 특히 세포막을 구성하는 세포질이 변성되어 mitochondria와 microsome의 구조에 변화가 일어나 이에 관련된 효소의 기능이 파괴되었고(Misra & Frudovich 1976), 또한 이때 생성된 hydroxy radical은 반응성이 아주 높아 확산에 의해 주변의 DNA 등의 아주 거대 분자에 산화적 손상을 입혀 DNA strand break를 초래한 것(Ward JF 1994)으로 생각된다. 여기에 vitamin C는 독성을 포함한 여러 가지 promutagen의 산화적 대사 과정을 저해하며, 산화 환원 완충계에서 유해한 free radical을 제거하여 adduct 형성을 저지시킴으로 세포 손상을 보호하는 것(Sato 등 1990)에 중요한 기능을 할 것으로 생각된다. 이상의 결과를 통해 vitamin C가 방사선 조사와 AFB<sub>1</sub>를 투여함으로써 발생하는 산화성 간세포 손상에 보호 효과가 있음을 확인하였으며, 이러한 자료가 방사선 노출과 aflatoxicosis의 치료나 예방을 위해 기초자료로 활용될 것으로 기대한다.

## 요 약

Aflatoxin은 *Aspergillus* 속 곰팡이로부터 생성되며, 사람에게 있어서 간독성 및 간암을 유발하는 잠재력을 가진 곰팡이 독소이며, 지질과산화 반응은 aflatoxin B<sub>1</sub>에 의한 세포 산화적 손상 시 발생하는 주요 현상 중의 하나이다. 방사선은 수술, 항암약물요법과 더불어 임상 시 중요한 치료 방법이나, 정상세포에 방사선을 조사하였을 때 반응성이 높은 활성산소와 과산화라디칼(OH\*)을 생성하여 세포막의 불포화 지방산을 지질 과산화물로 변성시켜 세포 산화적 손상을 일으킨다. 본 연구는 곡류를 주식으로 하는 우리나라 사람들의 경우,

aflatoxin B<sub>1</sub>에 노출되기 쉽고 이들 중 일부는 위, 간, 담도 암과 같은 상복부 암으로 진단되어 간을 포함하는 부위에 대해 방사선 치료를 받을 수 있는 경우를 생각하여 흰쥐에게 aflatoxin B<sub>1</sub>을 투여하거나 방사선과 aflatoxin B<sub>1</sub>을 병합 처리하여 vitamin C가 간독성 유발요인과 연관된 간 기능 효소들의 변화와 전자현미경 실험에 의한 형태학적 관찰을 알아보고자 시행되었다. X-ray 조사는 실험기간 내 단 1회로 실험사육기간 첫 일에 조사하였고, X-ray 조사 후 vitamin C를 투여하였으며 vitamin C 투여 1시간 후 AFB<sub>1</sub>을 투여하였다. Vitamin C와 AFB<sub>1</sub>은 모두 복강투여로 실험 사육 첫일부터 1회 시작하여 3일에 한번씩, 5회 반복 투여 하였으며 실험동물 사육기간은 총 15일로 하였다. GOT, ALK phatase, LDH는 유의적인 차이는 없으나 AFB<sub>1</sub>을 투여한 2군에 비해 2군에 vitamin C를 투여한 3군이, 방사선과 AFB<sub>1</sub> 병합 처리한 4군에 비해 4군에 vitamin C를 투여한 5군이 각각 감소하는 경향이 있었다. 간 기능 효소 중 GPT는 대조군에 비해 AFB<sub>1</sub>을 투여한 2군은 유의적인 차이가 없었으나 증가하였으며, 특히 2군에 비해 2군에 vitamin C를 투여한 3군은 수치가  $p < 0.001$  수준에서 현저히 감소하였다. TEM을 이용한 간세포의 형태에서는 AFB<sub>1</sub> 단독 처리군의 세포(G2)는 세포의 핵과 핵막이 팽창되어 있으며, 소포체가 긴 막대 모양에서 원형으로 변형되어 나타나고, 미토콘드리아는 크리스테(cristae)가 분열되어 속이 빈 형태를 보여주고 있으나 여기에 vitamin C를 투여한 3군의 세포(G3)에서는 핵은 아직 약간 팽창된 모양을 하고 있으나 핵막의 모양이 거의 정상으로 되었으며, 소포체와 미토콘드리아도 거의 정상 모양을 회복하고 있다. X선 조사와 AFB<sub>1</sub> 병합 처리군인 4군의 세포(G4)는 조직의 상당한 파괴가 관찰되었으며, 여기에 vitamin C를 투여한 5군의 세포(G5)는 정상적이지는 않으나 파괴 정도가 덜 한 것을 볼 수 있었다. 이로써 AFB<sub>1</sub> 단독 투여군인 2군, 방사선과 AFB<sub>1</sub> 병합 처리한 4군에 각각 vitamin C를 혼합 투여한 3군과 5군에서 핵과 핵막 등이 정상에 가깝게 회복된 현상은 vitamin C의 항산화력에 의해 세포막 표면에 형성된 틈이나 팽창 상태가 가역적이고 반복적인 결합이 유도되어 핵과 핵막이 많이 회복된 것을 확인할 수 있었다.

## 참고문헌

- Ahn KJ, Park SW, Cho HL, Kang KM, Chung DW, Kang JS, Chai JY. 2004. The protective effects of vitamin C on hepatotoxicity induced by radiation. *J Korean Soc Therapeutic Rad Onc* 22:280-287
- Anderson RW, Warner NL. 1976. Ionizing radiation and the immune responses. *Adv Immunol* 24:215-335

- Bababunmi EA, Bassir O. 1972. Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on the swelling and adenosin triphosphate activities of mitochondria isolated from different tissues of the rat. *FEMS Lett* 26: 102-104
- Bannasch P, Mayer D, Hackre HJ. 1980. Hepatocellular glycolysis and hepatocarcinogenesis. *BBA* 605:217-245
- Benedict WF, Wheatley WL, Jones PA. 1980. Inhibition of chemically induced morphological transformation and reversion of the transformed phenotype by ascorbic acid in C3/H10T1/2 cells. *Cancer Res* 40:2796-2801
- Chance B, Sies H, Boveris A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59:527-605
- Choi Jh, Yu BP. 1989. The effect of food restriction on kidney membrane structure of aging rats. *American Aging Association* 12:133-136
- Crapo JD, McCord JM. 1974. Superoxide dismutase and oxygen toxicity. *Am J Physiol* 226:1401-1407
- Del Raso N. 1992. *In vitro* methods for assessing chemical or drug toxicity and metabolism in primary hepatocytes. In *In Vitro Methods of Toxicology*. pp.176-201. CRC Press Inc, Boca Raton
- Del Raso N. 1992. *In vitro* methods for assessing chemical or drug toxicity and metabolism in primary hepatocytes. In: Watson, R.R.(Ed.), *In Vitro Methods of Toxicology*. CRC Press Inc, Boca Raton, FL, 176-201
- Doherty WP, Campbell TC. 1972. Inhibition of rat-liver mitochondria electron-transport flow by aflatoxin B. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 3:601-602
- Doherty WP, Campbell TC. 1973. Aflatoxin inhibition of rat-liver mitochondria. *Chem Biol Interact* 7:63-67
- Duncan DB. 1993. Multiple range test for correlated and heteroscedastic mean. *Biometrics* 13:164-176
- Guttenplan JB. 1977. Inhibition by L-ascorbate of bacterial mutagenesis induced by two N-nitroso compounds. *Nature* 268:368-370
- Hall EJ. 1994. Molecular biology in radiation therapy: The potential impact of recombinant technology on clinical practice. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 30:1019-1028
- Horton AA, Fairhurst S. 1987. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *CRC Crit Rev Toxicol* 18:27-79
- Ibeh IN, Uraih N, Ogonor JI. 1994. Dietary exposure to aflatoxin and human male infertility in Benin City. *Nigeria Inter Y Fert Manpaus Stud* 39:208-214
- Im HS, Lee JW. 1992. L-ascorbic acid administration on red blood cell hemolysis and tissue lipid peroxide levels in rats. *Kor J Gerontol* 2(2):153-158
- Jo UB, Kim SR. 1994. Alleviating effects of vitamin C on the gramoxone toxicity in rat liver. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 23:380-386
- Jung JY, OH TY, Lee KM, Kim DH, Ahn BU, KIM OB, Kim YB, You BM, Ham KB, Kim JH, Jo SW. 2002. Suppressive effects of antioxidant DA-9601 on hepatic fibrosis in rats. *Korean J Hepatology* 8:436-447
- Kim IG, Kim SB, Kim JG, Kim KC, Chun KC, Park HK, Lee KS. 1993. Serum enzymes as indicators of radiation exposure in rat. *J Kor Rad Prot* 18:37-45
- Konopacka M, Rzeszowska-Wolny J. 2001. Antioxidant vitamin C, E and  $\beta$ -carotene reduce DNA damage before as well as after  $\gamma$ -ray irradiation of human lymphocytes *in vitro*. *Mutat Res/Gen Toxic & Envir Muta* 491:1-7
- Lee JW, Kim SY, Kwak CS. 1997. Effects of excess vitamin C feeding on blood and liver lipid and its peroxidation levels and platelet thromboxane A<sub>2</sub> formation in rats. *K J Nutrition* 30:639-649
- Liu YK, Zang KZ, Wu YD. 1983. Treatment of advanced primary hepato-cellular carcinoma by I131-anti-AFP. *Lancet* 1:531
- Margolis SA, Zeigler RG, Helzlsouer HJ. 1991. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid measurement in human serum and plasma. *Am J Clin Nutr* 54:1315
- McCord JM, Fridovich I. 1970. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reaction. *J Biol Chem* 245:1374-1377
- Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico SD, Calafiore AM, Costanini F, Riario-sforza G, Imbastaro T, Neri M, Cuccurullo F. 1995. Vitamin E, C and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and non-smokers. *Atherosclerosis* 112:91-99
- Misra HP, Frudovich I. 1976. Superoxide dismutase and the oxygen enhancement of radiation. *Arch Biochem Biophys* 176:577-581
- Moody CS, Hassan HM. 1982. Mutagenicity of oxygen free radicals. *Proc Natl Acad Sci* 79:2855-2869
- Noh YJ, Ahn SD, Kim JH, Choi EK, Chang HS. 2001. Immunohistochemical studies for TIMP-1 and TIMP-2 expression after irradiation in lung, liver and kidney of C57BL/6 mouse. *J Kor Rad Onc* 19:181-189
- Park SA. 1993. Studies of sedum kantschaticum fisch. on



- lipid peroxidation and hepatotoxicity. MS Thesis, Sukmyung Woman's Uni. Korea
- Park SZ, Park JH, Park JS, Seo SJ, Chung DH. 2000. The effect of antioxidant vitamins on liver function enzymes and hepatic damage of aflatoxin B<sub>1</sub> treated mice. *J Soc Bio Nur Sci* 2:49-63
- Pong RS, Wogan GN. 1970. Time course and dose-response characteristics of aflatoxin B<sub>1</sub> effects on rat liver RNA polymerase and ultrastructure. *Cancer Res* 30:294-304
- Prokrivsky AA, Kravchenko LV, Tutelyan VA. 1972. Effect of aflatoxin on rat liver lysosomes. *Toxic* 10:25-30
- Rahimtula AD, Bereziat JC, Bussacchini GV, Bartsch H. 1988. Lipid peroxidation as a possible cause of ochratoxin A toxicity. *Biochem Pharm* 37:4469-4477
- Raina V, Gurtoo HL. 1985. Effects of vitamin A, C and E on aflatoxin B<sub>1</sub>-induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium* TA-98 and TA-100. *Teratogenesis Carcinogenesis Mutagenesis* 5:29-40
- Rudolph R, Utley J, Woodward M, Hurn I. 1982. The ultrastructure and etiology of chronic radiotherapy damage in the rat skin. *Surg Gynecol Obstet* 152:171-178
- Sato K, Niki E, Shimasaki H. 1990. Free radical-mediated chain oxidation of low density lipoprotein and its synergistic inhibition by vitamin E and vitamin C. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 279:402-405
- Seegers JC, Bohmer LH, Kruger MC, Lottering ML, Kock MD. 1994. A comparative study of ochratoxin A-induced apoptosis in hamster kidney and hela cells. *Toxic App Pharm* 129:1-11
- Shell S, Xu KL, Huff WE, Kabena LF, Harvery RB, Dunsford HA. 1998. Aflatoxin exposure produces serum alphafetoprotein elevation and marked oval cell proliferation in young male Pekin ducklings. *Pathology* 30:34-39
- Shen HM, Shi CY, Lee HP, Ong CN. 1994. Aflatoxin B<sub>1</sub>-induced lipid peroxidation in rat liver. *Toxic App Pharm* 127:145-150
- Siperstein MD. 1970. Regulation of cholesterol biosynthesis in normal and malignant tissues. *Curr Top Cell Regul* 2:65-100
- Theoron JJ, Liebenberg N, Jourbert HJB. 1965. Histochemistry and electronmicroscopy of acute liver lesions induced by aflatoxin B<sub>1</sub> in ducklings. *Nature(London)* 206:908-909
- Thompson CB. 1995. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 267:1456-1462
- Ward JF. 1994. DNA damage as the cause of ionizing radiation-induced gene activation. *Rad Res* 138:S85-S88
- wilson BJ. 1978. Hazards of mycotoxins to public health. *J Food Port* 41:375-384
- Wongan GN, Newbern PM. 1967. Does response characteristics of aflatoxin genesis in the rat? *Cancer Res* 27:2370
- Yang KM. 1988. Effects of dietary methionine level on lipid peroxidation and hepatic morphology in rat. *K J Nutrition* 17:376-383
- Yasukawa M, Terasima T, Seki M. 1989. Radiation-induced neoplastic transformation of C3H10T $\frac{1}{2}$  cells is suppressed by ascorbic acid. *Radiation Research* 120:456-467

---

(2010년 2월 8일 접수; 2010년 3월 18일 채택)