

저선량을 방사선 조사한 BALB/c 마우스에서의 영향평가

김성대*, 공은지*, 배민지*, 양광모*·†, 김중선*

*동남권원자력의학원, †한국원자력의학원

2012년 6월 20일 접수 / 2012년 7월 13일 1차 수정 / 2012년 7월 14일 채택

본 연구는 저선량을 방사선에 의한 급성독성을 조사하기 위해 BALB/c 마우스에게 낮은 선량율에 방사선을 만성 노출 후 일반증상과 체중, 장기중량, 부검소견, 혈액 및 뇨 검사를 통해 독성유무를 관찰하였다. 각각 암 수 20마리 마우스는 각 5마리씩 4군으로 분류하고, 3.49 mGy · h⁻¹의 저선량을 방사선을 정상대조군, 0.02, 0.2, 2 Gy를 각각 5.7시간, 2.4일, 24일 간 지속적으로 노출시키고 조사 후 1일에 마우스를 희생하여 독성을 평가하였다. 저선량을 방사선은 최고 선량의 (2 Gy) 노출에도 사망률, 임상증상, 체중, 사료와 음수 섭취량, 뇨검사, 혈청 생화학에서 독성이 관찰되지 않았다. 하지만 고환, 난소, 자궁을 포함한 생식 장기는 방사선량 의존적으로 장기의 무게가 감소되었으나, 다른 장기의 무게 변화는 관찰되지 않았다. 모든 방사선 조사군에서 혈액학적인 부작용은 관찰되지 않았고, 단지 호중구수가 노출 선량에 의존적으로 증가하였다. 이번 실험결과 마우스에서 저선량을 방사선 노출은 최고 선량인 2 Gy의 노출에 다른 부작용은 관찰되지 않았으나, 암컷 수컷의 생식장기에 무게 감소가 관찰되었다.

중심어: 저선량을 방사선, 독성평가, 마우스, 고환, 난소

1. 서론

최근 일본 대지진으로 인한 후쿠시마 원자력 발전소 폭발 사고는 일본뿐 아니라 전 세계적으로 방사선 노출에 대한 관심과 우려를 증가시켰고, 우리나라 역시 방사선 노출에 대한 불안감이 커진 상황이다. 방사선이 생체에 미치는 영향은 총 방사선 조사 총량뿐만 아니라 조사 선량율이 중요하다[1]. 하지만 그 동안 방사선 보호정책 및 관련 연구는 높은 선량율의 방사선 노출을 전제로 한 연구였으며, 저선량을 방사선 노출에 관한 연구는 미흡하였다. 기존의 고선량을 방사선에 의한 세포나 동물을 이용한 연구결과는 저선량을 방사선의 영역으로 적용하여 해석하지 못했다[2]. 최근 일부 연구에서 저선량을 방사선의 노출은 손상된 DNA의 복구를 유도하고[3], 면역 증진[4] 및 마우스에서의 수명연장을[5] 유도하는 것으로 보고된 바 있다. 하지만 일부 연구결과에서는 저선량을 방사선의 노출이 고선량을 방사선 노출보다 더 많은 세포사멸을 유도하여 생체에 유해할 수 있다는 보고도 있다[6].

이러한 저선량을 방사선 영향연구의 경우 연구 목적 이외의 기타 실험적인 영향에 따라 실험 결과에 큰 영향을 미치게 되는데, 부산 동남권원자력의학원에 구축된 저선량 방사선 조사 SPF 동물시설은 차폐된 공간에 질병 및 오염이 없는 환경에서 저선량 방사선에 의한 동물의 영향

연구를 가능하게 하였으며, 연구 목적 이외의 기타 실험적인 영향을 최소화 할 수 있도록 시설을 갖추었다(Fig. 1). 기존의 방사선 연구는 높은 선량율에 따른 독성에 관한 연구가 주를 이루었으나, 이번 연구에서는 낮은 선량율의 방사선 노출에 따른 마우스에서의 다양한 독성평가를 통해 독성유무를 확인하고자 하였다. 저선량 방사선 및 저선량을 방사선 기준은 United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR) 2000에서 보고된 6 mGy · h⁻¹ 이었다[6]. 본 연구는 저선량을 방사선 노출에 대한 안전성평가의 일환으로, 이번 연구에서는 3.49 mGy · h⁻¹의 선량율로 0.02, 0.2, 2 Gy의 방사선을 BALB/c 마우스에 노출시키고 식품 의약품안전청의 의약품 등의 독성시험기준(1999년)에 준하여 실험을 수행하였다[8].

2. 재료 및 방법

실험동물은 7주령의 수컷과 암컷 BALB/c 마우스(중앙 실험동물, 서울)를 사용하였다. 실험동물은 온도 23±2℃, 상대습도 50±5%, 조명시간은 12 시간(오전8시 점등-오후 8시 소등), 공기 순화는 시간당 13-18번 순환, 조도 200~300lux 로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육 상자에 5마리씩 수용하였고 실험동물용 고행사료(중앙실험동물, 서울)와 정수 장치를

책임저자 : 김중선, jskim@dirams.re.kr
부산광역시 기장군 장안읍 좌동길 40, 동남권원자력의학원

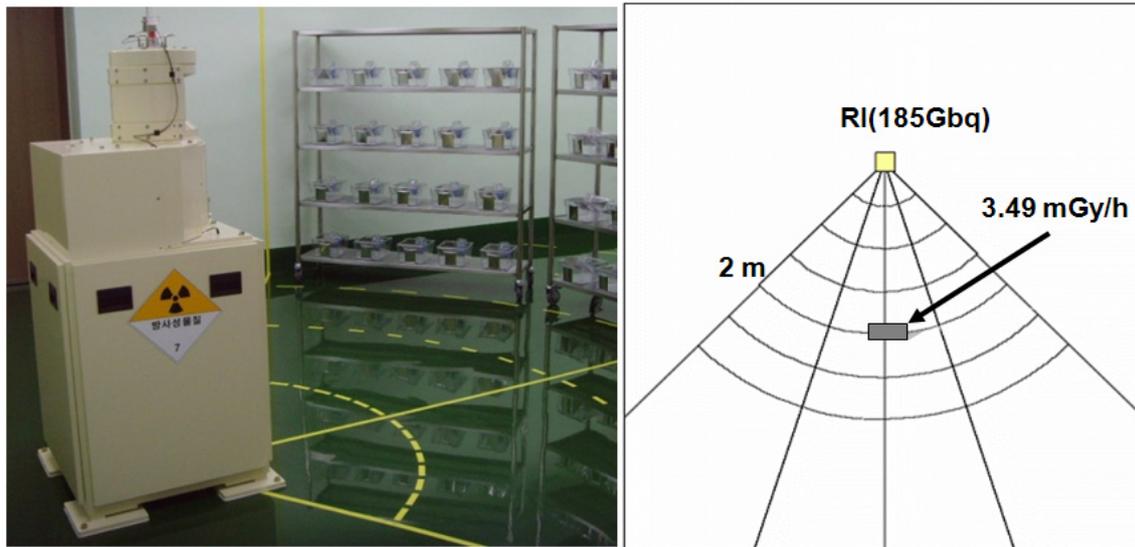


Fig. 1. Low dose rate irradiation equipment in Dongnam Institute of Radiological & Medical Sciences.

Table 1. Clinical Sign & Mortality for 3 Weeks.

Dose (Gy)	Final mortality		Clinical signs	
	Male	Female	Male	Female
0	0/10	0/10	-	-
0.02	0/10	0/10	-	-
0.2	0/10	0/10	-	-
2	0/10	0/10	-	-

Mice were placed in a cage on shelves located 2 m from the source representing 0.02, 0.2 and 2 Gy ($3.49 \text{ mGy} \cdot \text{h}^{-1}$) exposure. Sham control mice for both treatment groups were placed on shelves in the same facility and were shielded from the radiation. Values are expressed as the number of dead animal/total number of animal. - : No clinical signs.

통과한 수도수를 이용하여 자유 급식하게 하였다. 실험군은 정상대조군, 0.02, 0.2, 2 Gy 조사군을 암 수 각각 5마리의 마우스를 사용하였다. 모든 동물실험은 Institute of Laboratory Animal Resource 의 Guide for the Care and Use of Laboratory Animal (1996, USA)에 준하여 취급하였으며 동물실험은 동남권원자력의학원 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인 하에 수행되었다.

저선량을 방사선조사는 SPF 시설 내에 설치된 ^{137}Cs source (185 GBq)를 사용하여 선원에서 2 m 거리에서 $3.49 \text{ mGy} \cdot \text{h}^{-1}$ 의 선량율로 0.02 (5.7시간), 0.2 (2.4일), 2 (24일) Gy을 케이지에 마우스를 넣고 전신 조사하였다 (Fig. 1.). 모든 방사선조사를 마치고 하루 동안 대사케이지에서 대사량을 측정하고 독성을 평가하였다. 방사선 조사는 하루 24시간 동안 노출되게 하며 다만 일주일에 2시간은 케이지 교환 및 사료와 음수 급여 등을 목적으로 조사를 정지하였다. 대조군의 경우 모든 처치는 방사선 조사군과 일치하며 다만 방사선으로부터 차폐하여 사육하였다.

매주 1회에 걸쳐 음수량과 사료 섭취량을 대사케이지를 활용하여 측정하였다. 부검 하루 전날에는 대사케이지를 활용하여 뇨를 채취하였으며 채취한 뇨를 이용하여

bilirubin, urobilinogen, nitrite, pH, 비중, 백혈구, 케톤, 잠혈, 단백질, 당을 평가하였다.

최종 방사선조사가 끝이 나고 다음 날 마우스를 희생하였으며 체중 및 장기(간, 비장, 심장, 신장, 폐, 고환, 난소, 자궁, 뇌) 무게를 측정하였다. 부검에서 채취한 혈액을 이용하여 일부는 혈액생리학 검사를 실시하여, 백혈구, 호중구, 림프구, 단핵구, 호염기구, 적혈구, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean cell hemoglobin concentration (MCHC), red cell distribution width (RDW), 혈소판의 변화를 동물용 혈액자동분석기 (ADIVIA 2120, Siemens, Germany)를 이용하여 분석하였다. 더불어 혈액 내의 total protein, total cholesterol, creatinine, inorganic phosphorus, total bilirubin, calcium, albumin, blood urea nitrogen, glucose, sodium, potassium, chloride을 혈액생화학분석기 (FUJI DRI-CHEM 4000i, FUJI, JAPAN)를 이용하여 분석하였다.

실험결과는 평균±SE로 표시하였으며 모든 성적의 분석은 Graph PAD In program (GPIP, Graph PAD software, USA) 을 사용하였고 Student's t-test를 이용하여 통계적 분석을 실시하였다. 유의성 있는 평가는 0.05 이상을 기준으로 삼았다.

Table 2. Absolute and Relative Organ Weight.

Gy	Male				Female			
	0	0.02	0.2	2	0	0.02	0.2	2
Body weight (g)	26.18±.62	26.82±.8	26.86±.83	26.88±.95	19.6±1.7	19.54±1.1	19.48±1.5	19.46±1.1
Liver (g)	1.15±.09	1.45±.10	1.43±.04	1.43±.15	0.92±.10	1.04±.11	1.00±.13	1.00±.06
per body weight (%)	4.39±.31	5.39±.28	5.32±.16	5.32±.50	4.68±.18	5.31±.38	5.21±1.02	5.13±.41
Spleen (g)	0.104±.006	0.109±.008	0.107±.007	0.089±.005	0.104±.016	0.106±.010	0.097±.012	0.090±.008
per body weight (%)	0.396±.025	0.405±.020	0.398±.027	0.331±.013	0.531±.055	0.543±.045	0.501±.084	0.446±.087
Heart (g)	0.13±.010	0.139±.010	0.131±.011	0.132±.015	0.114±.008	0.103±.008	0.101±.004	0.100±.005
per body weight (%)	0.495±.032	0.518±.031	0.489±.043	0.491±.066	0.588±.036	0.528±.045	0.524±.055	0.528±.019
Kidney-L (g)	0.192±.030	0.218±.018	0.216±.015	0.207±.015	0.133±.027	0.147±.016	0.122±.021	0.125±.006
per body weight (%)	0.732±.104	0.810±.046	0.805±.068	0.770±.770	0.674±.097	0.743±.065	0.633±.144	0.664±.051
Kidney-R (g)	0.192±.040	0.219±.018	0.213±.017	0.211±.012	0.135±.016	0.136±.006	0.122±.020	0.125±.017
per body weight (%)	0.733±.145	0.815±.046	0.792±.065	0.786±.037	0.686±.038	0.692±.031	0.633±.141	0.661±.102
Lung (g)	0.177±.018	0.164±.017	0.158±.004	0.160±.020	0.141±.008	0.133±.007	0.126±.010	0.144±.025
per body weight (%)	0.675±.070	0.612±.049	0.588±.005	0.593±.061	0.72±.053	0.684±.059	0.65±.08	0.725±.097
Testis-L (g)	0.103±.005	0.096±.006	0.101±.006	0.063±.006*	-	-	-	-
per body weight (%)	0.393±.020	0.357±.023	0.374±.013	0.235±.027*	-	-	-	-
Testis-R (g)	0.099±.006	0.103±.011	0.102±.002	0.066±.011*	-	-	-	-
per body weight (%)	0.379±.019	0.382±.035	0.380±.012	0.246±.048*	-	-	-	-
Ovary-L (g)	-	-	-	-	0.009±.004	0.008±.004	0.003±.001*	0.003±.001*
per body weight (%)	-	-	-	-	0.044±.018	0.041±.022	0.015±.006*	0.017±.004*
Ovary-R (g)	-	-	-	-	0.011±.003	0.008±.002	0.004±.001*	0.004±.001*
per body weight (%)	-	-	-	-	0.041±.013	0.032±.007	0.019±.007*	0.018±.002*
Uterus (g)	-	-	-	-	0.077±.009	0.079±.005	0.087±.035	0.055±.012*
per body weight (%)	-	-	-	-	0.398±.069	0.404±.042	0.458±.22	0.285±.071
Brain (g)	0.452±.009	0.457±.023	0.456±.012	0.484±.046	0.449±.019	0.453±.011	0.442±.019	0.449±.009
per body weight (%)	1.726±.046	1.707±.131	1.700±.035	1.805±.202	2.303±.192	2.322±.080	2.285±.259	2.314±.152

Mice were placed in a cage on shelves located 2 m from the source representing 0.02, 0.2 and 2 Gy (3.49 mGy·h⁻¹) exposure. Sham control mice for both treatment groups were placed on shelves in the same facility and were shielded from the radiation. Each value represents Mean±SE of five animals. *P<0.05 as compared to the each sex sham control.

3. 결과

3.1 사망률 및 임상증상

시험 전 기간 동안 대조군을 포함한 모든 실험군에서 암·수 모두 사망동물은 관찰되지 않았다. 임상증상을 관찰한 결과 역시 대조군 및 방사선 조사군 모두에서 방사선 조사에 의한 외형의 변화 및 이상 행동 등은 관찰되지 않았다(Table 1).

3.2 사료 및 음수 섭취량

시험기간 중 사료 섭취량과 음수섭취량에서도 체중의

증가에 따른 자연스러운 사료 및 음수의 섭취량 증가를 보였을 뿐, 대조군을 포함한 모든 실험군 간에 통계적으로 의미 있는 사료 및 음수 섭취량의 차이는 보이지 않았다(data not shown).

3.3 체중변화

군 분리(randomization)를 위한 시험 개시 전 체중 측정 후 부검 전 까지 매주 체중을 측정한 결과 모든 군에서 고른 체중 증가가 관찰되었으며 대조군을 포함한 모든 실험군 간의 유의한 체중증가의 차이는 암·수 모두 보이지 않았다(data not shown).

Table 3. Urinalysis Values.

	Sex		Male				Female			
	Parameter(Gy)		0	0.02	0.2	2	0	0.02	0.2	2
Specific Gravity	≤1.005		4	0	0	0	0	0	0	0
	1.010		1	4	1	0	0	0	0	0
	1.015		0	1	3	4	0	3	2	0
	1.020		0	0	1	1	1	2	2	3
	1.025		0	0	0	0	3	0	1	2
	≥1.03		0	0	0	0	1	0	0	0
Bilirubin (mg/dl)	- / -	neg	5	5	5	5	5	5	5	5
	+ / -		0	0	0	0	0	0	0	0
	+ / +	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0
Nitrite	- / -		5	5	5	5	5	5	5	5
	+ / -		0	0	0	0	0	0	0	0
	+ / +		0	0	0	0	0	0	0	0
leukocyte (WBC/ul)	- / -	neg	1	5	5	5	3	5	5	4
	+ / -	10	2	0	0	0	1	0	0	1
	+ / +	25	2	0	0	0	1	0	0	0
pH	6		0	0	2	1	1	0	0	0
	7		2	0	0	0	2	2	4	3
	8		3	5	3	4	2	3	1	2
	9		0	0	0	0	0	0	0	0
Ketone (mg/dl)	- / -	neg	1	1	1	0	3	2	2	1
	+ / -	5	3	2	3	5	2	2	3	3
	+ / +	10	1	2	1	0	0	1	0	1
Urobilinogen(mg/dl)	normal	0.1	3	5	5	5	3	4	5	5
	+	10	2	0	0	1	2	1	0	0
Blood (RBC/ul)	- / -	neg	5	4	4	4	3	3	5	4
	+	10	0	1	1	1	2	0	0	0
	++	50	0	0	0	0	0	2	0	1
	+++	250	0	0	0	0	0	0	0	0
Protein (mg/dl)	- / -	neg	0	0	2	0	0	0	0	0
	+ / -	10	1	0	0	0	1	0	0	0
	+	30	1	2	1	3	3	4	2	2
	++	100	2	3	2	2	1	1	3	3
	+++	300	0	0	0	0	0	0	0	0
Glucose (mg/dl)	- / -	neg	3	5	3	1	3	2	1	1
	+ / -	100	2	0	2	4	2	2	1	2
	+	250	0	0	0	0	0	1	3	2
	++	500	0	0	0	0	0	0	0	0

Mice were placed in a cage on shelves located 2 m from the source representing 0.02, 0.2 and 2 Gy (3.49 mGy·h⁻¹) exposure. Sham control mice for both treatment groups were placed on shelves in the same facility and were shielded from the radiation. After radiation exposure, urines from individual mice were collected for 24h before autopsy by using metabolic cage. Each value represents incidence of five animals.

3.4. 부검 및 장기무게

실험 종료 후 시료 채취를 위한 부검시 각 장기의 육안적 소견관찰 및 절대적/상대적 무게를 측정 하였다. 간, 비장, 뇌, 심장, 폐, 신장의 경우 대조군을 포함한 모든 실험군에서 암·수 모두 유의한 절대적/상대적 장기 무게의 변화는 관찰되지 않았다. 다만 수컷의 경우 2Gy 조사군에서 통계적으로 유의한 정소의 절대적/상대적 장기 무게의 감소를 보였으며, 암컷의 경우 2Gy 조사군에서 통계적으로 유의한 난소 및 자궁의 절대적/상대적 장기증량 감소가 관찰되었다(Table 2).

3.5 혈액학적 검사

혈액학적 검사 결과 암컷과 수컷 모두 적혈구, 백혈구 수치(k/ul)에서 실험군 간의 의미 있는 차이는 관찰되지 않았다(Table 3). 기타 hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH, MCHC 및 RDW 수치도 대조군을 포함한 모든 실험군들에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 백혈구의 감별 진단결과, 암컷과 수컷에서 2Gy 조사군에서 대조군과 비교하여 유의한 호중구 수치 증가(p<0.05% of control value)가 관찰되었다.

Table. 4. Hematological Values.

Indices Gy	Male				Female			
	0	0.02	0.2	2	0	0.02	0.2	2
WBC (k/ul)	4.54±.63	5.36±.90	5.14±.12	4.33±.91	4.19±.60	5.91±.00	5.28±1.84	4.47±.55
NEU (k/ul)	0.60±.27	0.62±.13	0.81±.61	0.91±.18*	0.54±.19	0.7±.32	0.71±.59	0.93±.19*
LYM (k/ul)	3.61±.77	4.33±.71	3.91±.41	3.16±.75	3.44±.63	4.75±.99	3.91±.60	3.10±.36
MO (k/ul)	0.25±.07	0.32±.05	0.31±.09	0.16±.05	0.27±.12	0.25±.10	0.33±.11	0.13±.02
EO (k/ul)	0.06±.05	0.06±.02	0.08±.11	0.04±.02	0.04±.02	0.06±.03	0.05±.03	0.03±.02
BASO(k/ul)	0.02±.02	0.03±.02	0.02±.03	0.01±.01	0.01±.01	0.02±.01	0.01±.01	0.01±.01
RBC (M/ul)	9.00±.55	9.57±.05	8.90±.39	9.19±.76	9.04±.39	9.46±.76	9.70±.53	9.19±.49
Hb (g/dl)	12.44±.49	12.48±.57	11.40±.74	11.88±.61	12.66±.79	12.48±.76	12.66±.68	12.02±.44
HCT (%)	53.64±.62	59.68±.56	53.76±.55	57.62±1.6	54.18±.61	56.95±.84	60.20±.02	56.14±.36
MCV (fL)	59.42±.90	61.26±.92	60.80±.21	62.58±.86	61.32±.13	60.23±.83	60.72±.63	61.20±.93
MCH (pg)	13.80±.00	12.66±.98	12.82±.42	12.86±.70	14.56±.13	13.23±.43	12.86±.90	13.12±.39
MCHC(g/dl)	23.32±.31	20.60±.42	21.24±.16	20.58±.89	23.66±.16	21.98±.85	21.16±.97	21.46±.19
RDW (%)	20.18±.95	20.30±.40	20.04±.54	21.00±.88	20.62±.9	20.60±.30	20.1±.19	20.91±.58
PLT (k/ul)	834.8±75.2	966.6±93.4	731.6±22.4	873.6±15.6	628.4±55.8	774.3±40.4	743.2±55.5	573.0±28.6

Mice were placed in a cage on shelves located 2 m from the source representing 0.02, 0.2 and 2 Gy (3.49 mGy·h⁻¹) exposure. Sham control mice for both treatment groups were placed on shelves in the same facility and were shielded from the radiation. WBC: white blood cell, NEU: neutrophil, LYM: lymphocyte, MO: monocyte, EO: eosinophil, BASO: basophil, RBC: red blood cell, Hb: hemoglobin, HCT: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean cell hemoglobin concentration, RDW: red cell distribution width. Each value represents Mean±SE of five animals. *P<0.05 as compared to the each sex sham control.

Table. 5. Serum Biochemical Values

Indices Gy	Male				Female			
	0	0.02	0.2	2	0	0.02	0.2	2
TP	4.2±.1	4.2±.2	4.2±.2	4.0±.1	3.9±.1	3.3±.7	3.7±.1	3.6±.4
TCHO	100.0±.6	104.7±1.0	102.7±.4	87.7±.9	58.7±.4	53.5±16	62.0±.4	59.7±.1
CRE	0.2±.0	0.2±.1	0.2±.1	0.2±.1	0.2±.1	0.2±.1	0.5±.3	0.2±.1
IP	6.8±.5	8.5±.0	7.6±.5	8.8±.5	7.2±.0	6.3±.9	9.1±.1	8.8±.7
TBIL	0.6±.1	0.5±.1	0.5±.1	0.5±.0	0.6±.1	0.5±.0	1.0±.6	0.5±.1
Ca	8.9±.5	8.6±.3	8.7±.3	9.0±.6	8.9±.3	7.6±.1	9.0±.3	8.4±.4
ALB	2.2±.1	2.3±.1	2.3±.1	2.1±.1	2.1±.1	1.8±.2	2.1±.5	1.9±.3
BUN	19.5±.9	23.8±.4	21.9±.8	21.6±.8	18.9±2.1	21.0±.5	23.0±4.5	24.0±.8
GLU	178.2±13.2	161.9±68.1	93.2±82.8	164.0±5.2	207.5±6.1	150.3±43.5	163.1±29.1	275.5±83.
Na	144±.7	146±.5	146.3±.2	145±.2	142.3±.5	151.0±.1	136.3±8.2	146.5±.2
K	3.8±.1	4.4±.4	4.3±.3	4.0±.1	4.3±.2	3.9±.2	4.2±.5	5.1±.04
Cl	106.7±.5	108.3±.2	109.3±.6	108.±.04	107.7±.2	115.5±6.4	105.5±2.9	117±.03

Mice were placed in a cage on shelves located 2 m from the source representing 0.02, 0.2 and 2 Gy (3.49 mGy·h⁻¹) exposure. Sham control mice for both treatment groups were placed on shelves in the same facility and were shielded from the radiation. TP: total protein, TCHO: total cholesterol, CRE: creatinine, IP: inorganic phosphorus, TBIL: total bilirubin, Ca: calcium, ALB: albumin, BUN: blood urea nitrogen, GLU: glucose, Na: sodium, K: potassium, Cl: chloride. Each value represents Mean±SE of five animals.

3.6 혈액화학학적 검사

본 실험 결과 측정된 혈액화학학적 항목 모두에서 암컷과 수컷 공히 방사선 조사와 관련하여 어떠한 의미 있는 변화도 관찰되지 않았다(Table 4).

3.7 뇨검사 소견

수컷의 경우 방사선 조사선량에 따라 뇨비중이 증가하는 경향을 보인다. 기타 케톤, 단백질, 잠혈, 백혈구, pH 등은 각 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았다. 빌리루빈의 경우도 모든 실험군에서 음성을 나타내었다. 암컷의 경우는 전 항목에 걸쳐 방사선 조사 선량과 관련한 실험

군 간의 의미 있는 차이는 보이지 않았다(Table 5).

4. 논의

본 연구는 동남권원자력의학원에 구축된 저선량을 방사선 조사시설을 이용, SPF환경에서 저선량을(3.49 mGy·h⁻¹) 방사선 조사가 생체에 미치는 영향을 평가하기 위해 방사선에 민감한 실험동물 종으로 널리 알려진 BALB/c mouse를 이용하여 저선량을 방사선 조사(0, 0.02, 0.2, 2Gy)에 따른 임상증상, 체중 및 식이·음수 섭

취량의 변화, 육안적 부검소견 및 장기무게의 변화, 혈액학적 분석, 혈액화학적 분석, 노분석 등을 실시하였다.

시험 전 기간 동안 대조군을 포함한 암 수 모두 저선량을 방사선 조사군에서 사망동물은 관찰되지 않았으며, 유의할만한 행동 변화 및 이상 증상은 관찰되지 않았다 (Table 1). 체중의 변화에 있어서도 총 21일간의 방사선 조사 기간 중 유의성 있는 차이는 발견되지 않았다. 이는 0.2 및 2 Gy 조사 후 대조군을 포함한 각 실험군 간의 체중증가의 변화를 보이지 않은 Kang 등의 연구 결과와도 일치한다[9]. 물론 일부 보고에서 0.07Gy의 방사선이 조사된 후 체중 및 장기의 무게가 감소하는 것으로 보고된 바 있으나, 이러한 차이는 조사된 방사선의 선량을 차이 및 실험에 사용된 마우스 종(CBAx57BL/6 F1 mice)에 따른 차이로 판단된다. 사료 섭취량 및 음수량에 있어서도 시험 기간 중 유의성 있는 차이는 발견되지 않았다.

부검 및 장기중량 측정 결과에서는 대조군을 포함한 모든 저선량을 방사선 조사군에서 조사 후 간, 뇌, 심장, 폐, 신장의 무게 변화는 관찰되지 않았다. 이는 이전 연구에서 보고되었던 2 Gy 조사 마우스에서 간 및 신장의 무게 증가 결과와는 차이가 있었다[10]. 다른 뇌와 심장, 폐에서는 무게 감소가 관찰되지 않았으며 이러한 결과는 이전 연구 결과와 일치하였다[9]. 이번 실험 결과 저선량을 방사선 조사군 가운데 2 Gy 조사군에서 수컷 마우스는 고환의 무게감소, 암컷 마우스에서는 난소와 자궁의 무게 감소가 관찰되었다. 이전 저선량을 방사선 조사에 의한 장기 무게 변화 연구에서는 고환, 자궁, 난소와 같은 생식장기의 무게 측정은 이루어지지 않았다[9].

고환은 방사선에 가장 민감한 장기 가운데 하나이며 저선량 방사선 조사에도 고환의 기능 및 형태에 변화를 주게 된다. 방사선의 조사는 고환 세포의 염색체 이상이나 세포자멸사 및 고환 세포수 감소 등의 손상을 유발하게 된다[11,12]. 방사선 조사에 의해 고환세포는 방사선 선량과 시간에 따라 다양한 반응을 나타낸다. 방사선 치료환자에서 0.1 Gy의 낮은 선량에서도 정조세포는 형태학적인 변화와 숫자의 감소가 보고되었으며, 2 Gy의 선량에서는 정모세포의 숫자의 감소가 보고되었다[12]. 대부분 많은 논문에서 저선량을 방사선의 조사는 고선량을 방사선 조사와는 달리 유의성 있는 생물학적 영향이 없거나 오히려 다양한 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다[2,3,4]. 하지만 Moreno 등에 보고에 따르면 마우스 태아에서의 고환 gonocyte 및 Sertoli cell의 경우 고선량의 방사선 조사 보다 저선량의 방사선조사에서 더 심각한 고환독성을 유도하는 것으로 보고되었다. 특히 태아시기의 고환의 germ cell은 고선량을 방사선 보다 저선량을 방사선에 민감하게 독성을 보이는 것으로 보고된 바 있다[5].

난소의 germ cell 역시 방사선에 매우 민감하다[13,14]. 방사선 노출은 난포 내 과립세포의 세포자멸사를 유발하며, 난자의 염색체에 손상을 일으켜 난소의 기능을 저하시킨다[15]. 이번 연구 결과 다른 장기에서의 특별한 독성이나 변화가 관찰되지 않는 것과 비교하여 암수 생식기에서는 장기의 무게 감소를 비롯한 생식독성이 관찰됨에 따

라 고환과 난소를 비롯한 생식기에 대한 저선량을 방사선에 관한 심도 있는 연구가 필요할 것으로 보인다.

혈액학적 검사 결과 혈소판 수치의 경우 암컷과 수컷의 2 Gy 방사선 조사군에서 혈소판 수치가 감소하는 모습을 보이거나 통계적인 유의성은 없었으며 다른 방사선 조사군들과의 방사선량(dose)-상관성 등을 고려했을 때 방사선 조사와는 관계가 없는 우발적인 소견으로 사료된다. 기타 적혈구 수나, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH 등의 빈혈과 관련된 지표들은 별다른 이상 소견을 보이지 않았고 부검시 육안적 이상 소견이 없는 바, 비장, 골수, 간의 조혈 기능이 저선량을 방사선 조사와 관련된 이상은 발견되지 않았다. 마지막으로 백혈구 감별 진단결과 2Gy 조사한 암컷과 수컷 방사선 조사군에서 호중구 수치의 유의한 증가($p < 0.05\%$ of control value)가 관찰되었다. 비록 이러한 증가는 Wolford 등이 제시한 실험동물의 혈액학적 기초자료에서 제시한 측정치와 비교하였을 때, 측정치가 모두 정상범위 내에 속하는 범주였다[16]. 하지만 기존에 알려진 바와 같이 방사선 노출은 골수에 심각한 손상을 유도하는 것으로 알려져 있으며, 0.5 Gy 선량의 방사선 노출에도 조사 후 1일부터 림프구와 호중구를 포함한 백혈구 감소를 유도한다고 보고된 바 있다[17]. 하지만 이번 실험결과 저선량을 방사선($3.49 \text{ mGy} \cdot \text{h}^{-1}$)의 노출은 호중구를 증가시켰으며, 기존 보고된 실험결과와는 차이가 있었다[17]. Li 등의 보고에 따르면 $75 \text{ mGy} \cdot \text{min}^{-1}$ 의 선량율로 75 mGy 정도의 방사선에 노출되었을 때 골수의 hematopoietic progenitor cell에 증식이 유도되어지고 말초혈액에 혈구 이동이 유도되는 것으로 보고된 바 있다[18]. 이러한 실험결과는 본 실험에서 보이는 낮은 선량의 방사선에 노출 시 관찰되어지는 방사선량의존적인 말초 호중구수의 증가와 일치하는 결과로 사료된다. 특히 고선량을 방사선 노출 시에 가장 민감하게 감소하는 림프구의 변화가[19], 이번 저선량을 방사선 노출에서는 관찰되지 않았으며, 이러한 변화는 기존 방사선 연구에서 사용되었던 고선량을 방사선과 저선량을 방사선이 생물학적 영향이 서로 다름을 확인하는 결과이다.

본 실험 결과 측정된 혈액화학적 항목 모두에서 암컷과 수컷 공히 방사선 조사와 관련하여 어떠한 의미 있는 변화도 관찰되지 않았다. 칼슘과 BUN은 운동 실조와 관련된 항목이며, 빌리루빈은 헤모글로빈의 대사산물로서 빌리루빈의 증가는 빈혈의 소견으로 앞서 혈액학적인 검사에서 이상이 없음을 확인한 소견과도 일치한다. 기타 항목들에서도 방사선 조사와 관련된 의미 있는 소견은 보이지 않았다.

노분석은 비뇨기계의 손상이나 체내 염증반응을 파악하기 위한 가장 간단한 방법이며 필수적인 요소이다. 본 실험 결과 수컷에서는 방사선 조사에 따라 노비중이 증가하는 경향을 보이기도 하나, 노 검사의 다른 항목(케톤, 단백질, 잠혈, 백혈구 수)과 비교하여 보았을 때 방사선 조사 선량 상관성이 결여된 우발적인 결과로 판단된다. 이상의 결과를 통해 저선량을 방사선은 조사 선량에 따라 조사 24시간 후 암컷과 수컷의 생식장기의 절대적/상대적 무게를 감소시키며, 정상범위 내에서 호중구

수치를 증가시킨다. 이는 저선량을 방사선 조사에 의한 표적 장기로 생식 장기가 활용 될 수 있음을 확인하였다. 본 연구는 저선량을 방사선을 이용한 연구의 중요한 참고 자료로 활용될 수 있으며, 차후 실험을 통해 저선량을 방사선 조사 후 시간에 따른 생식 장기의 반응 및 그 기전을 규명하는 연구가 추가적으로 필요하다고 판단된다.

5. 결론

저선량을 방사선에 의한 BALB/c 마우스에서 3.49 mGy · h⁻¹의 낮은 선량율의 방사선에 노출되었을 때 급성 독성을 평가하였다. SPF 시설에 갖추어진 방사선 조사시설을 이용하여 정상대조군, 0.02, 0.2, 2 Gy로 노출시키고 일반증상 및 음수량, 체중변화 및 노검사를 평가하였고, 조사를 마치고 1일 마우스를 희생하여 장기중량 및 부검소견, 혈구 검사 및 혈청 검사를 통해 독성유무를 평가하였다. 실험 결과 일반증상 및 음수량, 체중변화에서는 특이한 차이점을 관찰하지 못하였다. 혈액검사 결과 2Gy 조사군에서 호중구의 증가가 관찰되었으나 정상 범위 내의 수치였고, 다른 지표에서는 특징적인 변화가 관찰되지 않았다. 노검사 및 혈청생화학검사에서도 독성은 관찰되지 않았다. 부검 결과 수컷에서는 고환의 크기가, 암컷에서는 난소와 자궁의 크기가 감소되었으며, 무게 역시 방사선량에 의존적으로 감소하였고 최고선량 (2 Gy) 군에서는 유의성 있는 감소가 관찰되었다. 생식장기 이외의 다른 장기무게 변화는 관찰되지 않았다. 이는 저선량을 방사선 조사에 의한 표적 장기로 생식 장기가 활용 될 수 있음을 확인한 결과였다. 본 연구는 저선량을 방사선을 이용한 연구의 참고자료로 활용될 수 있으며, 차후 실험을 통해 저선량을 방사선 조사 후 시간에 따른 생식 장기의 반응 및 그 기전을 규명하는 연구가 추가적으로 필요하다

감사의 글

이 연구는 교육과학기술부의 재원으로 동남권원자력의 학원의 지원을 받아 수행된 연구입니다(50496-2012).

참고문헌

1. Hall E. Radiobiology for the radiologist, 2nd. Harper & Row, Publishers, Inc. 1978:63-78.
2. De Saint-Georges L. Low-dose ionizing radiation exposure: understanding the risk for cellular transformation. J. Biol. Regul. Homeost. Agents 2004;18(2):96-100.
3. Nakamura H, Yasui Y, Saito N, Tachibana A, Komatsu K, Ishizaki K. DNA repair defect in AT cells and their hypersensitivity to low-dose-rate radiation. Radiat. Res. 2006;165(3):277-282.
4. Ina Y, Sakai K. Activation of immunological network by chronic low-dose-rate irradiation in wild-type mouse strains: analysis of immune cell

- populations and surface molecules. Int. J. Radiat. Biol. 2005;81(10):721-729.
5. Ina Y, Tanooka H, Yamada T, Sakai K. Suppression of thymic lymphoma induction by life-long low-dose-rate irradiation accompanied by immune activation in C57BL/6 mice. Radiat. Res. 2005;163(2):153-158.
6. Moreno SG, Dutrillaux B, Coffigny H. High sensitivity of rat foetal germ cells to low dose-rate irradiation. Int. J. Radiat. Biol. 2001;77(4):529-538.
7. UNSCER. Volume I and II. United Nations sales publication E.00.IX.3 and E.00.IX.4 United Nations, New York. 2000.
8. OECD (Organisation of Economic Co-operation and Development). Guidelines for the Testing of Chemicals. No. 401:Acute Oral Toxicity, Paris; 1987.
9. Kang YM, Shin SC, Jin YW, Kim HS. Changes in body and organ weights, hematological parameters, and frequency of micronuclei in the peripheral blood erythrocytes of ICR mice exposure to low dose rate γ -radiation. Journal of Radiation Protection. 2009;34(3):102-106.
10. Tsiperson VP, Soloviev MY. The impact of chronic radioactive stress on the immuno-physiological condition of small mammals. Sci. Total Environ. 1997;203(2):105-113.
11. Jang JS, Kim JS, Kim JC, Kim SH. Evaluation of Radiation-induced Apoptosis in Seminiferous Tubule of ICR Mouse after Gamma Irradiation. Journal of Life Science 2009;19(6): 799-803.
12. Liu G, Gong P, Zhao H, Wang Z, Gong S, Cai L. Effect of low-level radiation on the death of male germ cells. Radiat. Res. 2006;165(4):379-389.
13. Lee YK, Chang HH, Kim WR, Kim JK, Yoon YD. Effects of gamma-radiation on ovarian follicles. Arh. Hig. Rada. Toksikol. 1998;49(2):147- 153.
14. Dobson RL, Felton JS. Female germ cell loss from radiation and chemical exposures. Am. J. Ind. Med. 1983;4:175-190.
15. Chapman RM. Effect of cytotoxic therapy on sexuality and gonadal function. Semin. Oncol.1982; 9(1):84-94.
16. Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodeck M, Falk HB, Ruhren R. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. J. Toxicol. Environ. Health 1986;18(2):161-188.
17. Lee DK, Kang HJ. Effects on Hemopoietic Cells and Chromosomal DNA of Leukocytes in Mice Irradiated with Low Dose of X-ray I. Changes of Leukocyte, Lymphocyte, Thrombocyte and

- Erythrocyte Number. Kor. J. Vet. Publ. Hlth. 2002; 26:143-152.
18. Li W, Wang G, Cui J, Xue L, Cai L. Low-dose radiation (LDR) induces hematopoietic hormesis: LDR-induced mobilization of hematopoietic progenitor cells into peripheral blood circulation. Exp. Hematol. 2004;32(11):1088-1096.
19. Kucerova M, Anderson AJ, Buckton KE, Evans HJ. X-ray-induced chromosome aberrations in human peripheral blood leucocytes: the response to low levels of exposure in vitro. Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med. 1972;21(4):389-396.

Bioassay in BALB/c mice exposed to low dose rate radiation

Sung Dae Kim*, Eun Ji Gong*, Minji Bae*, Kwangmo Yang*[†], and Joong Sun Kim*

* Dongnam Institute of Radiological & Medical Sciences,

[†] Korea Institute of Radiological & Medical Sciences

Abstract - The present study was performed to investigate the toxicity of low-dose-rate irradiation in BALB/c mice. Twenty mice of each sex were randomly assigned to four groups of five mice each and were exposed to 0 (sham), 0.02, 0.2, or 2 Gy, equivalents to low-dose-rate irradiation to $3.49 \text{ mGy} \cdot \text{h}^{-1}$. Urine, blood, and blood biochemistry were analyzed, and organ weight was measured. The low-dose-rate irradiation did not induce any toxicologically significant changes in mortality, clinical signs, body weight, food and water consumption, urinalysis, and serum biochemistry. However, the weights of reproductive organs including the testis, ovary, and uterus decreased in a dose-dependent manner. Irradiation at 2 Gy significantly decreased the testis, ovary, and uterus weights, but did not change the weights of other organs. There were no adverse effects on hematology in any irradiated group and only the number of neutrophils increased dose dependently. The low-dose-rate irradiation exposure did not cause adverse effects in mice at dose levels of 2 Gy or less, but the reproductive systems of male and female mice showed toxic effects.

Keywords : Low-dose-rate irradiation, Toxicity, Mice, Testis, Ovary