

## Potential Role of Hedgehog Signaling in Radiation-induced Liver Fibrosis

Sihyung Wang and Youngmi Jung\*

*Department of Biological Science, Pusan National University, Busan 609-735, Korea*

Received May 25, 2013 / Revised May 27, 2013 / Accepted May 27, 2013

Radiotherapy is commonly used in treating many kinds of cancers which cannot be cured by other therapeutic strategies. However, radiotherapy also induces the damages on the normal tissues. Radiation-induced fibrosis is frequently observed in the patients undergoing radiotherapy, and becomes a major obstacle in the treatment of intrahepatic cancer. Hedgehog (Hh) that is an essential in the liver formation during embryogenesis is not detected in the healthy liver, but activated and modulates the repair process in damaged livers in adult. The expression of Hh increases with the degree of liver damage, regulating the proliferation of hepatic progenitors and hepatic stellate cells (HSC). In addition, Hh induces epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and activation of myofibroblasts. In the irradiated livers, up-regulated expression of Hh signaling was associated with proliferation of progenitors, EMT induction, and increased fibrosis. Female-specific expression of Hh led to the expansion of progenitors and the accumulation of collagen in the irradiated livers of female mice, indicating that gender disparity in Hh expression may be related with radiation-susceptibility in female. Hence, Hh signaling becomes a novel object of studies for fibrogenesis induced by radiation. However, the absence of the established experimental animal models showing the similar physiopathology with human liver diseases and fibrosis-favorable microenvironment hamper the studies for the radiation-induced fibrosis, providing a few descriptive results. Therefore, further research on the association of Hh with radiation-induced fibrosis can identify the cell and tissue - specific effects of Hh and provides the basic knowledge for underlying mechanisms, contributing to developing therapies for preventing the radiation-induced fibrosis.

**Key words** : Hedgehog, radiation, liver fibrosis, progenitor, epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)

### 서 론

전세계적으로 암 환자 수는 지속적으로 증가하고 있으며, 특히 우리나라의 경우, 1999년 대비 지난 10년간 94.5%가 증가된 것으로 조사되었다(National Cancer Information Center, 2010). 암 환자 수 증가와 함께, 암을 치료하기 위한 치료책 개발에 꾸준한 노력이 있었고, 암의 조기 발견과 함께 효과적인 치료책의 적용으로 실제 45~50%의 완치율을 보이고 있다. 대표적 치료 방법으로는 외과적 수술이나 약물을 이용한 항암치료, 그리고 이들 치료책과 함께 사용되는 방사선 조사를 통한 방법이 있으며, 그 중 25% 이상이 방사선 치료를 통해 완치된 것으로 보고되었다[41].

방사선 치료(radiotherapy)는 다양한 종류의 암세포 치료에 사용되는 방법으로서, 특이적으로 암세포 증식을 억제하고 암

세포만의 세포사멸을 이끌 수 있기 때문에 많은 환자에게서 효과적으로 이용 될 수 있다[16]. 또한, 더 이상의 외과 수술이나 화학적 약물 치료 등의 다른 방법이 제한적일 때 사용될 수 있는 유일한 항암치료 방법이다[5, 46]. 하지만, 치료 후 다양한 생리적, 정신적 부작용을 유발 할 수 있고 정상조직에서의 방사선 조사에 의한 손상이 유발되고 있기 때문에 아직까지 완전한 치료법이라 할 수 없다. 특히, 방사선 조사 후 정상조직에서의 섬유화는 방사선 손상의 대표적인 예로, 방사선 치료를 받은 여러 종류의 암 환자에서 나타나고 있다[6-7, 11, 39, 48, 78, 87]. 간암환자의 경우, 방사선 치료 후 나타난 간 섬유화로 인해 간 기능의 저하가 생기고, 이에 따라 간 섬유화의 만성질환 형태인 간경화로 사망할 수도 있게 된다[17]. 간 섬유화는 간질환의 대표적인 병리학적 특징으로, 간 암을 포함한 다양한 간 질환에서 나타나며, 간 섬유화 억제를 위한 많은 연구가 수행되고 있음에도 불구하고, 아직까지도 마땅한 치료책이 없는 실정이다. 따라서, 간암환자에서의 방사선 조사 후 나타나는 간 섬유화는 단순한 부작용이 아닌, 또 다른 질환의 진행이라고 볼 수 있다. 또한, 대부분의 간암 환자들이 섬유화를 동반하고 있고, 섬유화 진행에 매우 우호적인 질환 환경을 가지고 있기 때문에, 간암환자에서의 방사선 치료 효율은 낮은 편이다[40, 64]. 이에 따라, 방사선 조사가 간 손상에

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2262, Fax : +82-51-581-2962

E-mail : y.jung@pusan.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

끼치는 영향에 대한 연구가 진행되고 있지만, 사람 질환과 유사한 동물모델의 부재로 인해, 방사선 조사에 의한 간 섬유화 진행에 대해 명확히 알려진 것이 없다. 따라서, 본 총설에서는 방사선 조사에 따른 간 조직의 손상에 대해 설명하고 최근 손상된 간에서의 보수(repair) 작업을 조절하는 것으로 보고된 헤지호그(hedgehog)와 방사선 조사에 따른 간 섬유화와의 연계성을 제시하여, 방사선 치료에 따른 부작용을 최소화할 수 있는 기반연구의 필요성을 제시하고자 한다.

## 본 론

### 방사선 치료의 부작용

최근의 연구결과에 의하면 발암 환자 중 2/3가 방사선 치료 가 필수적이라는 주장되고 있으며, 방사선 치료의 횟수 또한 증가하고 있다[12]. 방사선치료는 복부 질환(celiopathy) 환자 중 악성 림프종(malignant lymphoma), 간세포암(hepatocellular carcinoma), 담관암(cholangiocarcinoma), 위암(stomach cancer) 등의 환자에 사용되고 있고[16], 보건복지부, 대한방사선 종양학회가 제공한 자료에 의하면 국내 유방암(breast cancer), 뼈 전이암, 뇌 전이암과 같은 전이암(metastatic cancer), 두경부암(head and neck cancer), 폐암(lung cancer), 직장암(rectal cancer), 뇌종양(encephaloma), 췌장암(pancreatic cancer) 등에서 방사선 치료를 시행하고 있다. 방사선 치료는 종양의 크기가 작거나, 조직내부에 침투해 있어 외과적 수술을 통해 제거가 불가능하거나, 혹은 외과적 수술 후 제거하지 못한 항정된 부위를 치료하는데 가장 효과적인 항암치료법으로 알려져 있다. 특히, 다른 치료법과 병행할 경우 효과를 증대시킬 수 있는 매우 효과적인 시술 방법이다. 하지만 치료 후 환자가 피로를 느끼거나, 피부의 문제, 위장관 장애, 구강장애, 비뇨기 및 생식기 장애, 방사선 폐렴 등의 부작용을 갖게 된다[14, 19, 47, 63, 75-76, 82, 89, 92]. 이런 다양한 부작용은 환자들로 하여금 방사선치료에 대한 심리적으로 부정적 이미지를 갖게 하고 실질적으로도 조직 내 섬유화를 유발하는 질환환경을 가져온다. 따라서, 방사선 치료의 부정적 이미지를 감소시키고 치료 효과의 극대화를 위해서, 방사선치료의 대표적 부작용인 섬유화에 대한 이해가 필요하다.

방사선 조사 시, 크게 3가지의 부작용(side effect)이 발생하는데 그 종류는 DNA 손상(DNA damage), 저산소증(hypoxia), 산화적 스트레스(oxidative stress)가 있다[31, 50, 93]. 방사선 조사는 DNA 손상에 의한 세포자살(apoptosis)과 세포성장정지(cell growth arrest)를 동반하여 정상보다 빠른 노화 상태(premature senescence)를 유도한다[30, 56, 62, 65]. 또한, 방사선 조사는 조직세포의 산소분압이 비정상적으로 낮아지는 저산소증을 유발한다[50, 88]. 즉, 방사선에 의해 저산소증 유발 인자-1a(hypoxia inducible factor-1a, HIF-1a)가 유

도되어 손상 부위에 저산소 환경이 형성된다는 것이다[4, 88, 91]. 저산소환경은 TGF (transforming growth factor)- $\beta$ 1에 의존적으로 콜라겐(collagen) 및 다른 세포외기질(extracellular matrix) 단백질들의 합성을 자극시켜, 섬유화 진행에 관여한다[15]. 마지막으로, 방사선이 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 과잉 생산을 유발하여 생체 내 항산화 방어계의 균형을 깨트리는 산화적 스트레스를 유발한다는 것이다[18, 66, 84]. 이는 약제, 방사선, 허혈 등의 요인으로 발생하며 DNA 손상뿐만 아니라, 생체 막의 이온 수송계를 손상시키고, 지질 과산화를 포함한 세포대사의 이상 초래, 간경변증, 지방간 등을 유발한다[13, 21, 52]. 그리고 방사선 조사에 의해 형성된 활성 산소종 역시 섬유화를 일으키는 TGF- $\beta$ 1을 활성화 시킴으로써, 저산소증과 섬유화라는 추가적인 부작용을 일으키게 된다[18, 49, 66].

### 방사선 조사에 따른 간 섬유화

방사선 치료의 부작용은 치료를 받는 동안 또는 치료 후에 바로 생기는 급성과 수개월에서 수년 후 생기는 만성이다. 급성 부작용은 방사선 조사 시 점막이 손상되어 설사와 구토가 생기는 것으로, 방사선 치료 후 점막이 회복되면서, 부작용은 사라지게 된다[1]. 만성부작용에는 골수염, 심부전, 섬유화 등이 있으며, 적절한 치료 없이 방치될 경우 또 다른 만성질환으로 진행될 수 있기 때문에, 방사선 치료 후에도 지속적인 검사가 필요하다. 섬유화는 방사선 부작용의 가장 큰 문제점으로, 특히 간암의 경우 치료 후 남아있는 섬유화 원인들과 방사선 조사에 의한 정상조직에서의 섬유화로 인해 간암에서의 방사선 치료 및 다른 항암치료의 효율성까지 크게 저하시키고 있다[32, 64, 73].

조직의 섬유화는 지나친 콜라겐의 축적과 기타 세포외기질 성분들의 합성과 분해의 균형이 깨졌을 때 나타나게 된다[91]. 섬유화는 간질환의 대표적인 병리학적 특징으로 주로 B형 또는 C형 바이러스(hepatitis B virus or hepatitis C virus; HBV or HCV), 알코올성 지방간염(alcoholic steatohepatitis; ASH), 비 알코올성 지방간(nonalcoholic fatty liver diseases; NAFLD)에 의해 발생하거나, 외에도 기생충(parasite), 약물독성(drug toxin), 대사성질환(metabolic disease) 등의 간 손상에 의해 섬유화 반응이 진행된다[3, 44-45, 81, 91]. 이런 섬유화 진행에 있어 근섬유아세포(myofibroblast)의 활성이 핵심적인 역할을 한다[23, 37]. 즉, 간 손상 시, 간 성상세포(hepatic stellate cell/HSC)가 근섬유아세포로 변환(transition)되어, 콜라겐, 피브로넥틴(fibronectin),  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA) 등의 섬유질 물질을 생성, 배출하게 됨으로써 간경화로 진행된다고 알려져 있다[3]. EMT (epithelial-to-mesenchymal transition) 또한 근섬유아세포 형성에 기여하는 것으로 보고되고 있다[8, 51]. 간 섬유화에서 근섬유아세포의 핵심적 역할이 점

차 규명됨에 따라, 방사선 조사에 따른 근섬유아세포 활성화에 대한 연구는 방사선 조사에 의한 섬유화를 이해함에 있어 중요한 연구 대상이 되고 있다.

방사선에 의한 섬유화 진행에 관여하는 인자들이 밝혀지는 가운데, 섬유화 촉진인자인 TGF- $\beta$ 의 역할이 대두되었다[16, 32, 49, 73]. TGF- $\beta$ 는 세포의 분화와 증식을 조절하는 대표적인 단백질로써 대다수의 세포에서 존재하며 다양한 기능을 담당한다[27, 37]. 특히, TGF- $\beta$  패밀리에 속하는 TGF- $\beta$ 1은 염증유발세포, 상피세포, 내피세포에 걸쳐 두루 발현됨으로써 섬유화를 유발하는 것으로 알려져 있다[85, 91]. TGF- $\beta$ 1은 세포막(plasma membrane)에 존재하는 수용체(receptor)에 결합하여 Smad 신호전달체계를 활성화하여, 프로콜라겐(procollagen)이라는 콜라겐 전구물질과 다른 기질 유전자를 발현하는 전사인자(transcription factor) 또는 보조인자(cofactor)를 합성하게 된다[2, 85]. 또한, p38, JNK, ras/ERK MAP 인산화효소 등 신호전달 체계의 연쇄반응을 통해 근섬유아세포의 형성을 촉진하게 된다[38]. 방사선에 의한 섬유화에서도, TGF- $\beta$ 1의 발현 증가가 보고되었다. 25 Gy의 고선량과 0.25에서 8 Gy까지의 다양한 조사량에서, TGF- $\beta$ 1의 신호전달계의 활성화가 관찰되었다. 특히, TGF- $\beta$ 1 신호전달체계가 차단된 동물 모델에 방사선을 처리했을 때 섬유화 표지물질인  $\alpha$ -SMA가 감소되었다[32, 73]. 이 밖에, 섬유화 과정을 촉진하는 것으로 알려진, 결합조직 성장 인자(connective tissue growth factor; CTGF)와 종양 괴사 인자(tumor necrosis factor; TNF)가 있다[10, 20, 25, 54].

지금까지 알려진 방사선에 의한 간 섬유화에 대한 연구결과들은 표면적인 현상들을 기술했을 뿐, 섬유화 형성 기작을 규명할 수 있는 구체적인 연구결과들이 도출되지 못하고 있다. 그 이유는, 사람에서 방사선 부작용으로 생긴 섬유화 정도가 방사선이 처리된 실험동물에서 재현이 되지 못한다는 점에서 적합한 동물모델의 부재에 따른 실험결과 해석에 한계가 있기 때문인 것으로 추정된다. 이에 따라, 방사선 실험은 주로 세포 수준에서 수행되고 있다. 하지만, 세포수준에서 도출된 연구결과를 개체의 생체시스템에 적용하기에는 무리가 있다. 또한, 대부분의 연구결과가 섬유화 촉진 인자인  $\alpha$ -SMA의 발현으로만 간 섬유화 정도를 증명했을 뿐, 간세포 사이의 동모양모세혈관(hepatic sinusoidal)과 실질조직에서의 섬유화 축적을 보여주기 못하고 있다. 마지막으로, 간 섬유화 진행과정의 한 부분이라고 할 수 있는 EMT와 핵심적 역할을 하는 근섬유아세포의 작용을 규명하지 못함으로써, 방사선에 의한 간 섬유화에 직접적인 원인이 규명되지 못하고 있다. 따라서, 방사선 조사에 따른 섬유화 기작을 이해하기 위해, 일반적인 간 질환에서 관찰되는 간 섬유화 기작에 대한 기본지식을 방사선에 의한 간 섬유화 과정을 규명하는데 활용함으로써, 근본적인 방사선에 의한 섬유화 반응을 억제할 수 있는 지식을 제공할 수 있을 것이라 생각된다.

헤지호그 신호 전달 체계(hedgehog signaling pathway), EMT 그리고 간 섬유화

간 섬유화를 유발하는 요인으로 TGF- $\beta$  외에, 헤지호그(hedgehog/Hh)도 간 섬유화에 핵심적 역할을 하는 것으로 보고되고 있다[33, 60-61]. 1970년대 후반, Christiane Nüsslein-Volhard와 Eric Wieschaus는 초파리(*Drosophila*)의 배아발생 과정에서 체절분화(segmentation)에 중요한 역할을 하는 헤지호그를 발견하였다. 돌연변이 된 헤지호그 유전자를 갖는 초파리 유충의 털이 가시처럼 변했고, 그 모양이 고슴도치(hedgehog)와 같다고 해서 헤지호그 유전자라고 이름이 붙여졌다[26, 29, 42, 53, 71]. 헤지호그는 포유류의 배아발생과정에서 간 발생에 핵심적 역할을 하는 모포젠(morphogen)이다[24, 58, 74]. 배아발생 단계에서 발현된 헤지호그는 성인의 건강한 간에서는 발현이 되지 않는다[35, 60, 61, 74]. 하지만, 손상된 간에서 헤지호그의 발현이 보고되면서[34], 이들 역할에 대한 연구가 급속히 진행되고 있다.

헤지호그 신호전달계에는 Sonic (Shh), Indian (Ihh), Desert (Dhh) 라는 3종류의 리간드(ligand), patch와 smoothend (smo)라는 수용체(receptor), 그리고 헤지호그 타깃인자인 glioblastomas (Gli: Gli1, Gli2, Gli3) 패밀리가 있다. 헤지호그 리간드와 patch의 결합은 patch에 묶여있던 smo를 풀어주게 되고, 풀린 smo는 세포질로 이동하여, glis를 핵 안으로 이동시키게 된다. 이동된 glis는 전사인자(transcription factor)로 작용하여, 자신의 신호전달계인 헤지호그 신호계를 활성화 하게 된다[58]. 헤지호그 억제자인 hip (hedgehog-interacting protein)과 patch의 결합은 헤지호그 신호계를 불활성화 시킨다 (Fig. 1)[28]. 헤지호그 신호는 오토크린(autocrine), 파라크린(paracrine) 또는 엔도크린(endocrine) 방식으로 이웃세포로 전달되며, 멀리 있는 조직에는 막 관련 입자(membrane-associated particle)의 형태인 엑소좀(exosome)을 통해 전달된다 [26, 58, 68].

다양한 종류의 성장인자나 사이토카인들이 헤지호그 발현을 유도하게 된다. Shh의 경우 위벽세포(gastric parietal cells)에서 EGF (epidermal growth factor)에 의해 발현되지만, 간 성상세포에서는 혈소판 유래 성장 인자(platelet-derived growth factor; PDGF)나 leptin에 의해 발현되기도 한다[58, 77, 90]. 또한, 세포사멸을 진행하는 간세포에서는 Shh과 Ihh 모두 발현된다고 보고되고 있다[36]. 여러 환경에 따라 다양한 세포에서 발현되는 헤지호그의 발현 특이성은 질환환경에서 헤지호그의 관련성을 암시한다. 성인의 건강한 간에서 발현되지 않던 헤지호그가 만성 알코올성 간질환, 원발담즙성 간경화(primary biliary cirrhosis; PBC), 비알콜성지방간염(steatohepatitis /NASH)과 같은 여러 종류의 간질환에서 과 발현됨이 보고되었고, 이들의 발현은 간 줄기세포의 증식과 근섬유아세포의 축적과 연계되어 있음이 밝혀졌다[33-35]. 이런 간질환들에서, 헤지호그는 오토크린(autocrine)과 파라크

린(paracrine)의 방식으로 간 손상에 따른 조직의 재형태형성(re-morphogenesis)에 관여하는 것으로 알려졌으며, 그 과정에 헤지호그에 의한 EMT가 진행되는 것으로 보고되었다[60]. EMT란 상피유형의 세포(epithelial cell)들과 중간엽 유형의 세포(mesenchymal cell)들 간의 전이(transition)를 의미한다[8]. 질환환경에서 TGF-β1과 같은 사이토카인의 증가는 상피세포유형의 세포 사멸을 불러오고, 우호적으로 중간엽 세포들의 증식을 유도한다. 그래서, 간세포들의 일부가 중간엽 세포로 변이하게 되어 TGF-β에 의한 세포사멸로부터 벗어나고 근섬유아세포가 되어 간 섬유화에 기여하게 된다[8]. 따라서, 헤지호그에 의한 근섬유아세포의 활성화와 EMT에 의해 만들어진 중간엽 세포들로 인해 더욱 과증된 근섬유아세포 증식이 나타나고, 결과적으로 간에서의 섬유질 축적은 더욱 가속화된다[8, 35].

헤지호그의 발현정도는 간질환 정도에 비례하는 것으로 보

고되었다[33, 35, 55]. 간의 손상은 간세포의 손실을 의미한다. 그래서 간암 및 간경화 같은 만성질환에서는 간세포의 대거 손실이 있고, 이 손실은 간세포가 아닌 다른 세포집단의 증식을 불러오게 되면서, 간 기능이 소실되고 사망에 이르게 된다. 간질환단계에 비례하여 발현이 증가되는 헤지호그와 간세포의 사멸과는 연관성이 있다. 앞서 언급한대로, 세포 사멸을 진행하는 간세포에서 헤지호그 리간드가 생성 및 분비되어 간 줄기세포의 특이적 생존 및 증식, 그리고 근섬유아세포의 활성을 유도하게 된다. 이들 세포들은 헤지호그 신호계를 더욱 증폭시키고, 이로 인해 섬유화가 더욱 가속화되어서, 궁극적으로 헤지호그 과발현에 의한 만성질환으로 진행되게 된다[9, 36, 58]. 또한, 헤지호그는 미성숙한 담관세포(immature ductular cells)를 자극하여 단핵백혈구와 같은 섬유화 세포로의 분화가 가능한 면역세포들을 불러들이는 역할을 한다 [59]. 이때 자연살해T세포(Natural killer T cells; NKT cells)를 포함

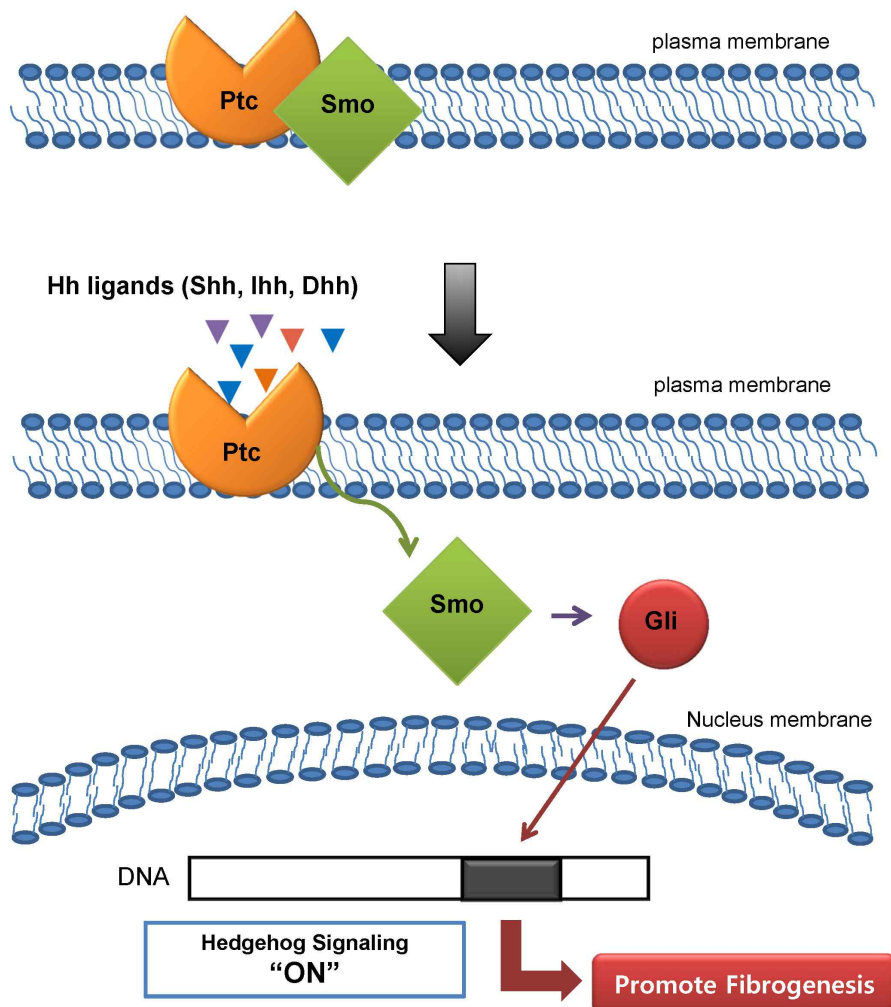
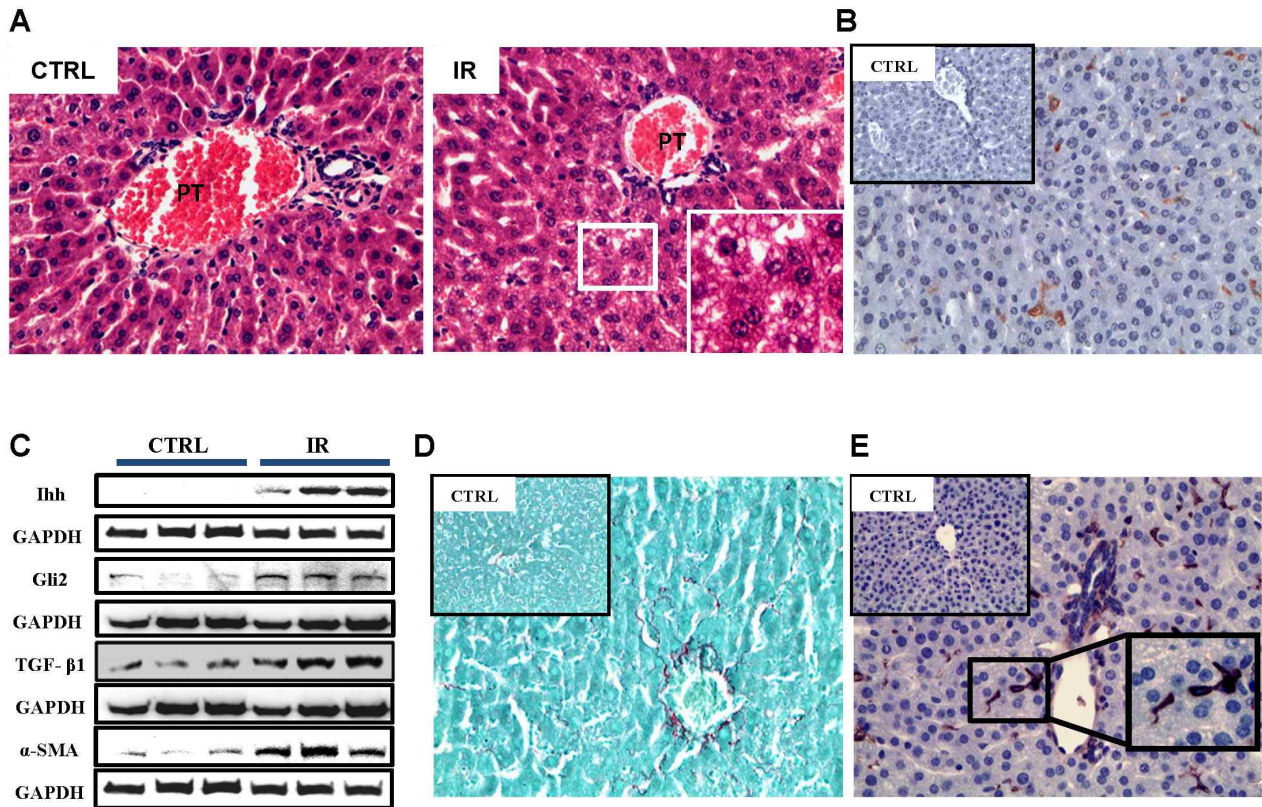


Fig. 1. Signaling pathway of Hedgehog. The binding of Hh ligands with Ptc releases Smo, which allow Glis to translocate into the nucleus. The translocated Glis binds to the promoter, extracellular matrix protein and cytokine, or to the Hh gene. Therefore, the activated Hh contributed to liver fibrosis. Shh: sonic Hh, Ihh: indian Hh, Dhh: desert Hh.

한 T 림프구(T lymphocytes)도 함께 불러들이게 되며, 담관세포가 분비한 CXCL16 (C-X-C motif ligand16)라는 헤지호그-의존적사이토카인에 의해 간으로 축적된 NKT 세포는 근섬유아세포의 성장을 자극하는 헤지호그 리간드를 만들어냄으로써 간 섬유화의 진행을 더욱 촉진하게 된다[79-80].

방사선 조사에 의한 간 섬유화 진행에서의 헤지호그의 작용 다른 암환자에서 보고된 것처럼, 방사선 치료를 받은 간암환자도 치료 후 섬유화 반응이 진행된다[67, 69, 72]. 간암환자들의 대부분은 암 조직 주변에 섬유화를 동반하고 있어서, 방사선조사로 간암 조직을 제거하였더라도, 암 조직 주변에 남아있는 섬유화 조직, 섬유화를 다시 유발하기에 좋은 질환환경, 그리고 방사선 조사에 따른 정상조직에서의 섬유화 등, 간암 환자에서의 방사선 치료는 섬유화라는 큰 걸림돌을 대면하고 있다. 따라서, 방사선 치료의 효율성 증대를 위해 방사선 치료 후 동반된 섬유화 진행에 대한 연구가 수행되고 있다. 일부 밝혀진 연구 결과에 따르면, 방사선이 조사된 실험

동물모델의 간에서 TGF-β1와 면역세포들의 작용으로 근섬유아세포가 형성되어 섬유질 생성에 기여할 수 있음이 밝혀졌다 [16, 32, 49, 73]. 최근 본 연구팀은 방사선에 의한 간 섬유화 진행에 헤지호그와의 관련성을 제시하였다(Fig. 2)[86]. 20Gy의 고선량 γ-방사선을 조사한 생쥐(C57BL/6)의 간은 형태학적으로 큰 변화를 보였다. 지방이 축적된 간세포들(fatty hepatocyte)이 간문맥 삼분지(portal traid) 주변에서 관찰되었고, 중심 정맥(central vein) 근처에서는 크기가 작고 세포분열을 진행하고 있는 간세포들이 관찰되었다. 또한 방사선이 조사된 생쥐의 간에서 세포사멸 마커인 active caspase-3의 발현과 함께, 헤지호그 리간드 중 하나인 Ihh의 발현증가와 헤지호그 신호계를 활성화시키는 Gli2의 발현이 유도되었고, 이에 따른 간 섬유화가 관찰되었다. 관찰된 간 섬유화는 EMT 유발 인자인 TGF-β1와 EMT 촉진인자인 laminin β3의 발현 증가 및 EMT 억제 인자인 bmp7의 발현감소에 의해 뒷받침되었다. 또한, 헤지호그 활성화에 따른 간 줄기세포의 증식도 관찰되었다. 이 결과들은 방사선에 의한 간 손상에서 헤지호그의 발현



Radiat Res (2012) 179: 69-75

Fig. 2. Increased expression of Hh signaling in the damaged liver by irradiation A. H & E staining shows the accumulation of fatty hepatocytes in irradiated liver. The inserted image shows the representative fatty hepatocytes from IR (X40) B. Liver sections stained to demonstrate the activated caspase 3 from representative CTRL and IR mice. C. Western blot analysis of Ihh, Gli2, TGF-β (inducer of fibrosis) and α-SMA (fibrogenic marker) expression (GAPDH was used as an internal control). D. Sirius red staining in liver sections from representative control and irradiated mice (X40). E. Expansion of CD44-positive progenitors in mouse livers after radiation. Box displays the magnified image from radiation-treated mouse (X40). PT: portal tract, CTRL: control group, IR: irradiation group.

증가가 간 줄기세포의 증식 및 EMT를 통해 간 섬유화에 기여할 수 있음을 처음으로 제시한 것이다[86]. 또한, 방사선 치료의 만성 부작용을 규명하기 위한 연구에서, 방사선 조사 후 간에서 일어난 반응에 대한 헤지호그의 관련성도 추가적으로 제시되었다. 방사선 조사 후, 6주와 10주에 부검된 생쥐의 간에서 헤지호그의 과발현이 관찰되었고, 특히, 6주에는 EMT 촉진인자들의 발현증가가, 10주에서는 단백질 수준에서의 간 섬유화가 관찰되었다. 특히, 헤지호그 리간드인 Ihh은 6주에, Shh은 10주에 극대화되는 발현 양상의 차이를 보였고, 이는 Ihh과 Shh이 방사선 조사에 따른 간 보수과정에서 다른 역할을 한다는 것을 암시한다. 지금까지 간 형태 재구성 과정에서 각각의 헤지호그 리간드의 역할이 알려져 있지 않기 때문에, 방사선에 의해 손상된 간에서의 Ihh과 Shh의 특이적 발현 결과는 매우 흥미롭다. 방사선 조사 후 6주에서 Ihh의 발현증가와 함께 간 줄기세포의 증식이 나타나 10주 까지 계속되었고, 섬유화는 Shh의 발현이 극대화된 10주에 관찰된 점으로 보아, Ihh은 간 줄기세포의 증식을, Shh은 간 섬유화를 유발했을 가능성이 있다. Shh이 섬유화에 관여하고[60], Ihh은 간 줄기세포의 증식을 유도 한다는 일부 연구 결과와도 일치한다[34]. 본 결과들은 방사선 치료를 끝내고 수 개월 또는 수 년 뒤에 나타난 섬유화에 대한 섬유화 형성 기작을 규명하기 위한 연구로, 헤지호그 신호계 인자들의 발현양상의 차이가 간에서 일어나는 지속적인 반응에 단계적으로 작용하여, 궁극적으로는 간 섬유화에 기여했음을 제안하고 있다.

방사선 치료는 환자의 연령, 질환 부위 및 정도 등의 다양한 조건에 따라 선량과 횟수, 방법이 달라지게 된다[57, 70, 83]. 특히 성별에 따른 방사선 민감성의 차이는 이미 알려져 있지만, 아직까지 구체적 원인에 대해서는 밝혀지지 않고 있다. 일부 연구 결과에 따르면, 성 호르몬(sex hormone)의 작용으로 방사선 조사에 따른 성별 차이가 유발된다고 보고되었다[22]. 본 연구팀은 방사선 조사에 따른 성별 간 민감성의 차이에 헤지호그가 관여함을 제시하였다. 같은 양의 방사선이 조사된 암컷과 수컷생쥐의 간을 비교했을 때, 수컷에서는 큰 변화가 두드러지지 않는 반면, 암컷에서는 간 전체에서 지방 간세포의 축적과 함께 헤지호그의 발현 증가, 간 줄기세포의 축적, EMT 반응 증가와 더불어 간세포 주변의 동모양모세혈관에서의 콜라겐 축적이 관찰되었다. 이는 방사선 조사 후, 암컷생쥐의 간에서 활성화된 헤지호그의 발현이 방사선 민감도에 기여한다는 것을 제시한 것으로, 헤지호그 발현에 대한 성별 차이가 간 보수 과정을 조절함으로써 방사선에 대한 민감성을 결정할 수 있는 중요한 인자들 중 하나임을 제시한다[43].

방사선 조사 후 나타나는 간 섬유화에 대한 연구는 매우 복잡한 문제들을 내재하고 있다. 예를 들어, 이미 내재되어 있는 섬유화 환경이 방사선이라는 자극에 어떻게 반응하는지, 그리고 정상처럼 보이는 조직에서의 방사선에 의한 손상이 주변 또는 내재된 질환환경과 어떤 상호작용에 의해 반응하게

되는지 등 많은 생체 내 조건들을 고려해야 한다. 이런 복잡성은 방사선 손상에 의해 나타나는 섬유화에 대한 연구 진행에 있어 어려움을 더하고 있다.

## 결 론

보건복지부와 국립암센터가 제공한 통계에 따르면, 우리나라 사망자 중 28.3%가 암 사망자로, 1983년 이후 계속 사망원인 1위를 차지하고 있다. 그 중 간암으로 인한 사망률이 10.9%를 차지하고 있고, 이 비율은 현대인의 식습관 변화와 음주 등에 의해 꾸준히 증가되고 있는 추세이며, 간암의 완치율은 9.6% 밖에 되지 않는다. 간암은 초기 자각증상의 부재로 인해 조기진단이 어려워 병이 진행된 3-4기의 말기 단계에 발견되고, 한국사람들의 대부분이 바이러스성 감염과 섬유화를 동반하고 있기 때문에, 암 조직이 제거되더라도 섬유화로 인해 사망하게 된다. 그래서, 단순한 간암조직의 제거뿐 아니라 간 전체에 대한 포괄적 치료가 필요하다. 현재 시행되는 간암치료방법으로 혈관을 차단하는 색전술이나, 약물치료, 외과적 절제, 간 이식, 그리고 방사선 치료가 있다. 간 이식은 완치율을 80-90%까지 올릴 수 있음에도 불구하고 간을 필요로 하는 사람의 수에 비해 공여자의 수가 터무니 없이 적어서, 간 이식 수술은 근본적인 해결책이 될 수 없는 상황이다. 진행성 간암의 경우에는 뚜렷한 치료방법이 없어서 일반적인 암 치료법과 방사선 치료법의 병행이 유일한 방법으로 거론되고 있다. 그러나, 방사선 조사 후 나타나는 정상조직에서의 섬유화는 또 다른 질환 형태인 간 섬유화를 가져오게 되고, 이것이 계속 진행될 경우 만성질환인 간경화로 사망하게 될 수 있다. 이런 시점에서, 방사선 조사에 의한 섬유화에 대한 포괄적 연구를 통해, 방사선 치료의 부작용을 억제할 수 있는 치료책 개발로의 연계가 요구된다.

최근 간 섬유화 진행을 조절하는 인자로 헤지호그가 주목받고 있다. 성인의 건강한 간에서 발현이 되지 않는 헤지호그가 간 질환 실험동물모델들 및 임상샘플에서 그 발현이 보고되면서, 간암을 포함한 만성 간질환으로의 질환진행에 대한 헤지호그의 역할이 부각되고 있다. 손상된 조직에서의 헤지호그 발현은 간 재생과정에 필요한 간줄기세포, 면역세포, 그리고 간성상세포의 증식을 유도한다[36, 79-80]. 반면에, 심한 손상 및 지속적인 손상에 따른 헤지호그의 과발현은 이들 세포의 과증식을 유발하게 되어 궁극적으로 뒤틀리고 재구성된 간 조직을 만들게 되고, 결국엔 만성질환인 간경화나 간암으로 질환진행을 촉진시키게 된다[33-34]. 이렇게 질환진행에서 핵심적 역할을 수행하는 헤지호그가 최근 방사선에 의한 간 섬유화 과정에서도 그 관련성이 밝혀짐으로써, 기존의 방사선 치료에 가장 큰 문제점으로 남았던 섬유화 반응의 원인을 규명할 수 있는 가능성을 제시하고 있다. 따라서, 구체적 연구결과를 기반으로 방사선에 의해 유래된 섬유화를 억제할 수 있

는 치료기술 개발 연구가 필요하다. 특히, 사람에서의 방사선 치료 부작용과 세포·생화학적, 생리 및 형태학적으로 유사한 방사선 간질환 동물모델의 정립이 필요하다. 세포 실험을 통한 세포 수준에서의 방사선에 의한 섬유화 규명도 중요하지만, 생체 내 세포들 간의 상호작용 및 환경에 대한 복합적인 연구를 통해, 손상에 따른 간 보수반응에 대한 다양한 정보가 요구된다.

방사선 조사에 대한 환자 개개인의 간질환 상태에 따른 반응을 고려하여 방사선 선량 및 시기를 조절하고, 방사선에 의한 간 섬유화를 억제할 수 있는 치료책 개발은 필수적이다. 간 섬유화라는 방사선치료의 한계점을 극복할 수 있는 가능성을 제시한 헤지호그와 관련된 새로운 정보를 기반으로, 방사선치료의 효율성을 극대화 할 수 있는 신약 개발 분야에서의 후속 연구를 통해 치료책이 개발 될 수 있을 것이라 기대된다. 생물학적 반응에 기반을 둔 기초연구의 활성화와 더불어 추가적인 임상 연구로의 확대가 이루어 진다면, 보다 완전한 방사선 치료의 확립과 방사선 치료에 대한 사회적 인식의 재정립에 기여하게 될 것이다.

### 감사의 글

이 논문은 Journal of Life Science와 Radiation Research에서 제공한 그림을 인용하였고, 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

### References

- Ahmadi, A. 2012. Potential prevention: Aloe vera mouth-wash may reduce radiation-induced oral mucositis in head and neck cancer patients. *Chin J Integr Med* **18**, 635-640.
- Anscher, M. S., Chen, L., Rabhani, Z., Kang, S., Larrier, N., Huang, H., Samulski, T. V., Dewhirst, M. W., Brizel, D. M. and Folz, R. J. 2005. Recent progress in defining mechanisms and potential targets for prevention of normal tissue injury after radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **62**, 255-259.
- Battaller, R. and Brenner, D. A. 2005. Liver fibrosis. *J Clin Invest* **115**, 209-218.
- Bennett, M., Feldmeier, J., Hampson, N., Smee, R. and Milross, C. 2012. Hyperbaric oxygen therapy for late radiation tissue injury. *Cochrane Database Syst Rev* doi: 10.1002/14651858.CD005005.pub3.
- Bessell, A., Glenny, A. M., Furness, S., Clarkson, J. E., Oliver, R., Conway, D. I., Macluskey, M., Pavitt, S., Sloan, P. and Worthington, H. V. 2011. Interventions for the treatment of oral and oropharyngeal cancers: surgical treatment. *Cochrane Database Syst Rev* **7**, doi: 10.1002/14651858.CD006205.pub3.
- Chin, J. L., Touma, N., Pautler, S. E., Guram, K. S., Bella, A. J., Downey, D. B. and Moussa, M. 2003. Serial histopathology results of salvage cryoablation for prostate cancer after radiation failure. *J Urol* **170**, 1199-1202.
- Chin, M. S., Freniere, B. B., Bonney, C. F., Lancerotto, L., Saleeby, J. H., Lo, Y.-C., Orgill, D. P., Fitzgerald, T. J. and Lalikos, J. F. 2013. Skin Perfusion and Oxygenation Changes in Radiation Fibrosis. *Plast Reconstr Surg* **131**, 707-716.
- Choi, S. S. and Diehl, A. M. 2009. Epithelial-to-mesenchymal transitions in the liver. *Hepatology* **50**, 2007-2013.
- Choi, S. S., Omenetti, A., Syn, W.-K. and Diehl, A. M. 2011. The role of Hedgehog signaling in fibrogenic liver repair. *Int J Biochem Cell Biol* **43**, 238-244.
- Chu, P. S., Nakamoto, N., Ebinuma, H., Usui, S., Saeki, K., Matsumoto, A., Mikami, Y., Sugiyama, K., Tomita, K., Kanai, T., Saito, H. and Hibi, T. 2013. C-C motif chemokine receptor 9 positive macrophages activate hepatic stellate cells and promote liver fibrosis in mice. *Hepatology* [Epub ahead of print].
- Darby, S. C., Cutter, D. J., Boerma, M., Constine, L. S., Fajardo, L. F., Kodama, K., Mabuchi, K., Marks, L. B., Mettler, F. A. and Pierce, L. J. 2010. Radiation-related heart disease: current knowledge and future prospects. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **76**, 656-665.
- Delaney, G., Barton, M. and Jacob, S. 2004. Estimation of an optimal radiotherapy utilization rate for melanoma. *Cancer* **100**, 1293-1301.
- Devasagayam, T., Tilak, J., Boloor, K., Sane, K., Ghaskadbi, S. and Lele, R. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *JAPI2004* **52**, 794-804.
- Di Franco, R., Sammarco, E., Calvanese, M. G., De Natale, F., Falivene, S., Di Lecce, A., Giugliano, F. M., Murino, P., Manzo, R. and Cappabianca, S. 2013. Preventing the acute skin side effects in patients treated with radiotherapy for breast cancer: the use of corneometry in order to evaluate the protective effect of moisturizing creams. *Radiat Oncol* **8**, 57.
- Distler, J. H., Jünger, A., Pileckyte, M., Zwerina, J., Michel, B. A., Gay, R. E., Kowal-Bielecka, O., Matucci-Cerinic, M., Schett, G. and Marti, H. H. 2007. Hypoxia-induced increase in the production of extracellular matrix proteins in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* **56**, 4203-4215.
- Du, S.-S., Qiang, M., Zeng, Z.-C., Zhou, J., Tan, Y.-S., Zhang, Z.-Y., Zeng, H.-Y. and Zhong-Shan, L. 2010. Radiation-induced liver fibrosis is mitigated by gene therapy inhibiting transforming growth factor- $\beta$  signaling in the rat. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **78**, 1513-1523.
- Gil-Alzugaray, B., Chopitea, A., Iñarrairaegui, M., Bilbao, J. I., Rodriguez-Fraile, M., Rodriguez, J., Benito, A., Dominguez, I., D'Avola, D. and Herrero, J. I. 2013. Prognostic factors and prevention of radioembolization-induced liver disease. *Hepatology* **57**, [Epub ahead of print].
- Giusti, A. 1998. Human cell membrane oxidative damage induced by single and fractionated doses of ionizing radiation: a fluorescence spectroscopy study. *Int J Radiat Biol* **74**, 595-605.
- González-Arriagada, W. A., de Andrade, M. A. C., Ramos, L. M. A., Bezerra, J. R. S., Santos-Silva, A. R. and Lopes,

- M. A. 2013. Evaluation of an educational video to improve the understanding of radiotherapy side effects in head and neck cancer patients. *Support Care Cancer* [Epub ahead of print].
20. Gressner, O. A. and Gressner, A. M. 2008. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. *Liver international* **28**, 1065-1079.
  21. Halliwell, B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* **344**, 721-724.
  22. Henderson, M. A., Valluri, S., DesRosiers, C., Lopez, J. T., Batuello, C. N., Caperell-Grant, A., Mendonca, M. S., Powers, E.-M., Bigsby, R. M. and Dynlacht, J. R. 2009. Effect of gender on radiation-induced cataractogenesis. *Radiat Res* **172**, 129-133.
  23. Hinz, B., Phan, S. H., Thannickal, V. J., Galli, A., Bochaton-Piallat, M.-L. and Gabbiani, G. 2007. The myofibroblast: one function, multiple origins. *Am J Pathol* **170**, 1807-1816.
  24. Hirose, Y., Itoh, T. and Miyajima, A. 2009. Hedgehog signal activation coordinates proliferation and differentiation of fetal liver progenitor cells. *Exp Cell Res* **315**, 2648-2657.
  25. Holmes, A., Abraham, D. J., Sa, S., Shiwen, X., Black, C. M. and Leask, A. 2001. CTGF and SMADs, maintenance of scleroderma phenotype is independent of SMAD signaling. *J Biol Chem* **276**, 10594-10601.
  26. Hooper, J. E. and Scott, M. P. 2005. Communicating with hedgehogs. *Nat Rev Mol Cell Biol* **6**, 306-317.
  27. Horiguchi, M., Ota, M. and Rifkin, D. B. 2012. Matrix control of transforming growth factor- $\beta$  function. *J Biochem (Tokyo)* **152**, 321-329.
  28. Hyun, J. and Jung, Y. 2011. Potential Roles of Hedgehog and estrogen in regulating the progression of fatty liver disease. *J Life Sci* **21**, 1795-1803.
  29. Ingham, P. W., Nakano, Y. and Seger, C. 2011. Mechanisms and functions of Hedgehog signalling across the metazoa. *Nat Rev Genet* **12**, 393-406.
  30. Jackson, J. G., Post, S. M. and Lozano, G. 2011. Regulation of tissue- and stimulus-specific cell fate decisions by p53 in vivo. *J Pathol* **223**, 127-137.
  31. Jennings, F. and Arden, A. 1962. Development of radiation pneumonitis time and dose factors. *Archives of Pathology (US) Formerly Arch Pathol Lab Med Formerly AMA Arch Pathol Changed back to Arch Pathol Lab Med* **74**, 351-360.
  32. Jeong, W.-I., Do, S.-H., Kim, T.-H., Jeong, D.-H., Hong, I.-H., Ki, M.-R., Kwak, D.-M., Lee, S.-S., Jee, Y.-H. and Kim, S.-B. 2007. Acute effects of fast neutron irradiation on mouse liver. *J Radiat Res (Tokyo)* **48**, 233-240.
  33. Jung, Y., Brown, K. D., Witek, R. P., Omenetti, A., Yang, L., Vandongen, M., Milton, R. J., Hines, I. N., Rippe, R. A. and Spahr, L. 2008. Accumulation of hedgehog-responsive progenitors parallels alcoholic liver disease severity in mice and humans. *Gastroenterology* **134**, 1532-1543. e1533.
  34. Jung, Y., McCall, S. J., Li, Y. X. and Diehl, A. M. 2007. Bile ductules and stromal cells express hedgehog ligands and/or hedgehog target genes in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* **45**, 1091-1096.
  35. Jung, Y., Syn, W. K., Omenetti, A., Abdelmalek, M., Guy, C. D., Yang, L., Wang, J., Witek, R. P., Fearing, C. M. and Pereira, T. A. 2009. Hedgehog-mediated epithelial-to-mesenchymal transition and fibrogenic repair in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* **137**, 1478-1488. e1478.
  36. Jung, Y., Witek, R. P., Syn, W.-K., Choi, S. S., Omenetti, A., Premont, R., Guy, C. D. and Diehl, A. M. 2010. Signals from dying hepatocytes trigger growth of liver progenitors. *Gut* **59**, 655-665.
  37. Krieg, T. 2007. New developments in fibroblast and myofibroblast biology: implications for fibrosis and scleroderma. *Curr Rheumatol Rep* **9**, 136-143.
  38. Leask, A., Denton, C. P. and Abraham, D. J. 2004. Insights into the molecular mechanism of chronic fibrosis: the role of connective tissue growth factor in scleroderma. *J Invest Dermatol* **122**, 1-6.
  39. Lee, C., Prabhu, V. and Slevin, N. J. 2011. Collagen vascular diseases and enhanced radiotherapy-induced normal tissue effects – a Case Report and a Review of Published Studies. *Clin Oncol* **23**, 73-78.
  40. Lee, I. J., Seong, J., Shim, S. J. and Han, K. H. 2009. Radiotherapeutic parameters predictive of liver complications induced by liver tumor radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **73**, 154-158.
  41. Lee, J. 2013. *Understanding of Radiotherapy*. The Society of Seoul Radiological Technologist Association.
  42. Lee, J. J., von Kessler, D. P., Parks, S. and Beachy, P. A. 1992. Secretion and localized transcription suggest a role in positional signaling for products of the segmentation gene hedgehog. *Cell* **71**, 33-50.
  43. Lee, K., Wang, S., Hyun, J., Lee, Y. and Jung, Y. 2013. Hedgehog signaling influences gender-specific response of liver to radiation in mice. *Hepatol Int* Under review.
  44. Letterio, J. J. and Roberts, A. B. 1998. Regulation of immune responses by TGF- $\beta^*$ . *Annu Rev Immunol* **16**, 137-161.
  45. Lin, W., Weinberg, E. M. and Chung, R. T. 2013. Pathogenesis of accelerated fibrosis in HIV/HCV Co-infection. *J Infect Dis* **207**, S13-S18.
  46. Llovet, J. M. and Bruix, J. 2008. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* **48**, 1312-1327.
  47. Ma, L., Guo, Q., Zhang, Y., Kong, X., Yang, L., Lin, S., Huang, C., Pan, J. and Lu, J. 2013. The effect of intensity-modulated radiotherapy versus conventional radiotherapy on quality of life in patients with nasopharyngeal cancer: a cross-sectional study. *Head Neck Oncol* **5**, 8.
  48. Manning, C. M., Johnston, C. J., Hernady, E., Miller, J.-n. H., Reed, C. K., Lawrence, B. P., Williams, J. P. and Finkelstein, J. N. 2013. Exacerbation of Lung Radiation Injury by Viral Infection: The Role of Clara Cells and Clara Cell Secretory Protein. *Radiat Res* [Epub ahead of print].
  49. Martin, M., Lefaix, J.-L. and Delanian, S. 2000. TGF- $\beta$ 1 and radiation fibrosis: a master switch and a specific therapeutic target? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **47**, 277-290.
  50. Marx, R., Johnson, R. and Kline, S. 1985. Prevention of osteoradionecrosis: a randomized prospective clinical trial of



- hyperbaric oxygen versus penicillin. *J Am Dent Assoc* **111**, 49-54.
51. Meindl-Beinker, N. M. and Dooley, S. 2008. Transforming growth factor- $\beta$  and hepatocyte transdifferentiation in liver fibrogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* **23**, S122-S127.
  52. Murrell, D. F. 1993. A radical proposal for the pathogenesis of scleroderma. *J Am Acad Dermatol* **28**, 78-85.
  53. Nüsslein-Volhard, C. and Wieschaus, E. 1980. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* **287**, 795-801.
  54. Nasir, G. A., Mohsin, S., Khan, M., Shams, S., Ali, G., Khan, S. N. and Riazuddin, S. 2013. Mesenchymal stem cells and Interleukin-6 attenuate liver fibrosis in mice. *J Transl Med* **11**, 78.
  55. Ochoa, B., Syn, W. K., Delgado, I., Karaca, G. F., Jung, Y., Wang, J., Zubiaga, A. M., Fresnedo, O., Omenetti, A. and Zdanowicz, M. 2010. Hedgehog signaling is critical for normal liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Hepatology* **51**, 1712-1723.
  56. Oh, C.-W., Bump, E. A., Kim, J.-S., Janigro, D. and Mayberg, M. R. 2001. Induction of a senescence-like phenotype in bovine aortic endothelial cells by ionizing radiation. *Radiat Res* **156**, 232-240.
  57. Ohri, N., Shen, X., Dicker, A. P., Doyle, L. A., Harrison, A. S. and Showalter, T. N. 2013. Radiotherapy protocol deviations and clinical outcomes: a meta-analysis of cooperative group clinical trials. *J Natl Cancer Inst* **105**, [Epub ahead of print].
  58. Omenetti, A., Choi, S., Michelotti, G. and Diehl, A. M. 2011. Hedgehog signaling in the liver. *J Hepatol* **54**, 366-373.
  59. Omenetti, A. and Diehl, A. M. 2008. The adventures of sonic hedgehog in development and repair. II. Sonic hedgehog and liver development, inflammation, and cancer. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **294**, G595-G598.
  60. Omenetti, A., Popov, Y., Jung, Y., Choi, S. S., Witek, R. P., Yang, L., Brown, K. D., Schuppan, D. and Diehl, A. M. 2008. The hedgehog pathway regulates remodelling responses to biliary obstruction in rats. *Gut* **57**, 1275-1282.
  61. Omenetti, A., Yang, L., Li, Y.-X., McCall, S. J., Jung, Y., Sicklick, J. K., Huang, J., Choi, S., Suzuki, A. and Diehl, A. M. 2007. Hedgehog-mediated mesenchymal - epithelial interactions modulate hepatic response to bile duct ligation. *Lab Invest* **87**, 499-514.
  62. Prithvirajsingh, S., Story, M. D., Bergh, S. A., Geara, F. B., Kian Ang, K., Ismail, S. M., Stevens, C. W., Buchholz, T. A. and Brock, W. A. 2004. Accumulation of the common mitochondrial DNA deletion induced by ionizing radiation. *FEBS Lett* **571**, 227-232.
  63. Pu, J., Qin, S.-s., Ding, J.-x., Zhang, Y., Zhu, W.-g., Yu, C.-h., Li, T., Tao, G.-z., Ji, F.-z. and Zhou, X.-l. 2013. A randomized controlled study of single-agent cisplatin and radiotherapy versus docetaxel/cisplatin and radiotherapy in high-risk early-stage cervical cancer after radical surgery. *J Cancer Res Clin Oncol* **139**, 703-708.
  64. Qian, J., Feng, G.-S. and Vogl, T. 2003. Combined interventional therapies of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* **9**, 1885-1891.
  65. Richardson, R. B. 2009. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea. *Aging (Albany NY)* **1**, 887.
  66. Riley, P. 1994. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* **65**, 27-33.
  67. Rodemann, H. P. and Bamberg, M. 1995. Cellular basis of radiation-induced fibrosis. *Radiother Oncol* **35**, 83-90.
  68. Rosette, C. and Karin, M. 1995. Cytoskeletal control of gene expression: depolymerization of microtubules activates NF-kappa B. *J Cell Biology* **128**, 1111-1119.
  69. Rossi, L., Zoratto, F., Papa, A., Iodice, F., Minozzi, M., Frati, L. and Tomao, S. 2010. Current approach in the treatment of hepatocellular carcinoma. *World J Gastrointest Oncol* **2**, 348.
  70. Sathian, B., Fazil, A., Sreedharan, J., Pant, S., Kakria, A., Sharan, K., Rajesh, E., Vishrutha, K. V., Shetty, S. B., Shahnavaz, S., Rao, J. H. and Marakala, V. 2013. Statistical modelling and forecasting of cervix cancer cases in radiation oncology treatment: a hospital based study from Western Nepal. *Asian Pac J Cancer Prev* **14**, 2097-2100.
  71. Schuske, K., Hooper, J. E. and Scott, M. P. 1994. patched overexpression causes loss of wingless expression in *Drosophila* embryos. *Dev Biol* **164**, 300-311.
  72. Sempoux, C., Horsmans, Y., Geubel, A., Fraikin, J., Van Beers, B., Gigot, J., Lerut, J. and Rahier, J. 1997. Severe radiation-induced liver disease following localized radiation therapy for biliopancreatic carcinoma: Activation of hepatic stellate cells as an early event. *Hepatology* **26**, 128-134.
  73. Seong, J., Kim, S. H., Chung, E. J., Lee, W. J. and Suh, C. O. 2000. Early alteration in TGF- $\beta$  mRNA expression in irradiated rat liver. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **46**, 639-643.
  74. Sicklick, J. K., Li, Y.-X., Melhem, A., Schmelzer, E., Zdanowicz, M., Huang, J., Caballero, M., Fair, J. H., Ludlow, J. W. and McClelland, R. E. 2006. Hedgehog signaling maintains resident hepatic progenitors throughout life. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **290**, G859-G870.
  75. Sommer, J., Prosch, C., Bajrovic, A., Muenscher, A., Blessmann, M., Kruell, A., Petersen, C., Todorovic, M. and Tennstedt, P. 2013. Xerostomia after radiotherapy. *Strahlenther Onkol* **189**, 216-222.
  76. Sridharan, V., Sharma, S. K., Moros, E. G., Corry, P. M., Tripathi, P., Lieblong, B. J., Guha, C., Hauer-Jensen, M. and Boerma, M. 2013. Effects of radiation on the epidermal growth factor receptor pathway in the heart. *Int J Radiat Biol* [Epub ahead of print].
  77. Stepan, V., Ramamoorthy, S., Nitsche, H., Zavros, Y., Merchant, J. L. and Todisco, A. 2005. Regulation and function of the sonic hedgehog signal transduction pathway in isolated gastric parietal cells. *J Biol Chem* **280**, 15700-15708.
  78. Stubblefield, M. D. 2011. Radiation fibrosis syndrome: neuromuscular and musculoskeletal complications in cancer survivors. *PM&R* **3**, 1041-1054.
  79. Syn, W. K., Htun Oo, Y., Pereira, T. A., Karaca, G. F., Jung, Y., Omenetti, A., Witek, R. P., Choi, S. S., Guy, C. D. and Fearing, C. M. 2010. Accumulation of natural killer T cells in progressive nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* **51**,

- 1998-2007.
80. Syn, W. K., Witek, R. P., Curbishley, S. M., Jung, Y., Choi, S. S., Enrich, B., Omenetti, A., Agboola, K. M., Fearing, C. M. and Tilg, H. 2009. Role for hedgehog pathway in regulating growth and function of invariant NKT cells. *Eur J Immunol* **39**, 1879-1892.
  81. Teneva, B. 2011. Pathogenesis and assessment of renal function in patients with liver cirrhosis. *Folia Med (Plovdiv)* **54**, 5-13.
  82. Tribius, S., Sommer, J., Prosch, C., Bajrovic, A., Muenscher, A., Blessmann, M., Kruell, A., Petersen, C., Todorovic, M. and Tennstedt, P. 2013. Xerostomia after radiotherapy: What matters-mean total dose or dose to each parotid gland? *Strahlentherapie und Onkologie Organ der Deutschen Rontgengesellschaft [et al]*.
  83. Ursino, S., Greco, C., Cartei, F., Colosimo, C., Stefanelli, A., Cacopardo, B., Berretta, M., Fiorica, F., Rizzo, L. and Nunnari, G. 2012. Radiotherapy and hepatocellular carcinoma: update and review of the literature. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **16**, 1599-1604.
  84. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* **39**, 44-84.
  85. Verrecchia, F., Mauviel, A. and Farge, D. 2006. Transforming growth factor-beta signaling through the Smad proteins: role in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* **5**, 563-569.
  86. Wang, S., Hyun, J., Youn, B. and Jung, Y. 2012. Hedgehog signaling regulates the repair response in mouse liver damaged by irradiation. *Radiat Res* **179**, 69-75.
  87. Wernicke, A. G., Greenwood, E. A., Coplowitz, S., Parashar, B., Kulidzhanov, F., Christos, P. J., Fischer, A., Nori, D. and Chao, K. S. C. 2013. Tissue compliance meter is a more reproducible method of measuring radiation-induced fibrosis than late effects of normal tissue - subjective objective management analytical in patients treated with intracavitary brachytherapy accelerated partial breast irradiation: results of a prospective trial. *Breast J* **19**, 250-258.
  88. Westbury, C., Pearson, A., Nerurkar, A., Reis-Filho, J., Steele, D., Peckitt, C., Sharp, G. and Yarnold, J. 2007. Hypoxia can be detected in irradiated normal human tissue: a study using the hypoxic marker pimonidazole hydrochloride. *Br J Radiol* **80**, 934-938.
  89. Yamamoto, N., Nakajima, M., Tsujii, H. and Kamada, T. 2013. Carbon ion radiotherapy for oligo-recurrence in the lung. *Pulm Med* [Epub ahead of print].
  90. Yang, L., Wang, Y., Mao, H., Fleig, S., Omenetti, A., Brown, K. D., Sicklick, J. K., Li, Y.-X. and Diehl, A. M. 2008. Sonic hedgehog is an autocrine viability factor for myofibroblastic hepatic stellate cells. *J Hepatol* **48**, 98-106.
  91. Yarnold, J. and Vozenin Brotons, M.-C. 2010. Pathogenetic mechanisms in radiation fibrosis. *Radiother Oncol* **97**, 149-161.
  92. Yock, T. I. and Caruso, P. A. 2012. Risk of second cancers after photon and proton radiotherapy: a review of the data. *Health Phys* **103**, 577-585.
  93. Zhao, W., Diz, D. and Robbins, M. 2007. Oxidative damage pathways in relation to normal tissue injury. *Br J Radiol* **80**, S23-S31.

## 초록 : 방사선에 의한 간섬유증에서 헤지호그의 잠재적 역할

왕시형 · 정영미\*

(부산대학교 자연과학대학 생명과학과)

방사선 치료는 가장 일반적으로 사용되고 있는 항암치료로, 암 환자의 수 증가와 동반하여 방사선 활용도는 더욱 증가하고 있다. 방사선치료에 대한 환자들의 심리적 거부감과 산화적 스트레스, 저산소증, DNA 손상을 포함하여, 치료 후 나타나는 간 섬유화는 방사선 치료의 가장 큰 문제점으로 대두되고 있다. 간암의 경우 대부분의 환자들이 섬유화를 동반하고 있어서, 방사선에 의해 암세포가 제거된다 하더라도, 기존에 남아있는 손상 부위에서의 섬유화와 방사선 조사에 의한 정상조직의 섬유화는 간경변 유발 확률을 높이고 있다. 간 섬유화는 여러 간 질환에서 흔히 관찰되는 증상으로, 간 섬유화 진행 기작의 규명은 만성질환으로의 진행을 억제할 수 있는 치료책 개발로 연계될 수 있지만, 아직까지 명확히 규명되지 않음에 따라, 섬유화를 억제할 수 있는 효과적인 방법이 없는 실정이다. 최근 간 섬유화 생성 및 진행에 대한 헤지호그의 역할이 밝혀지면서, 간암 및 만성질환으로의 진행을 이해하기 위한 연구대상으로 대두되고 있다. 헤지호그는 손상된 간에서 발현되어 보수과정에 기여하게 된다. 헤지호그의 발현은 간 손상 정도에 비례하여 발현되어, 간 줄기세포 및 간 성상세포의 증식을 조절한다. 또한, TGF- $\beta$ 1와, EMT를 유도하고 근섬유화세포의 활성을 조절하여, 간 섬유화 진행에 중심적 역할을 한다. 방사선이 조사된 생쥐의 간에서도 헤지호그의 발현증가가 관찰되었고, 이에 따른 간 줄기세포의 증식 및 EMT 유도, 콜라겐의 축적이 관찰되었다. 또한, 방사선이 조사된 암컷 생쥐의 간에서 헤지호그의 차별적 증가는 줄기세포 및 섬유화 증대로 연결되었고, 이는 방사선 민감성에 대한 성별차이를 설명할 수 있는 생물학적 근거가 될 수 있다. 그러나, 방사선에 의해 유도된 간 섬유화에 대한 연구결과들이 헤지호그를 비롯하여, 표면적인 결과보고만 있을 뿐, 섬유화 진행에 대한 구체적 기작을 밝히지 못하고 있다. 여러 간 질환진행에서 규명된 헤지호그 작용에 대한 지식을 방사선에 의해 유도된 간 섬유화를 이해하기 위한 기초자료로 활용하고, 사람에서의 방사선 부작용과 유사한 동물모델의 정립 및 헤지호그 역할을 직접적으로 규명할 수 있는 추가적 연구를 통해서, 간 섬유화 형성 기작을 이해할 수 있는 연구결과가 기대된다.