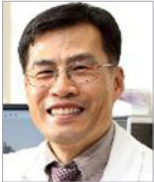


저선량 방사선의 암 발병 억제 및 수명연장 효과



김희선
 한국수력원자력(주) 방사선보건연구원
 선임연구원/수의학박사
 hskimdv@khnp.co.kr



1. 연구개요

고선량(률) 방사선의 사람이나 생물에 대한 유해성에 대하여 잘 알려져 있지만 저선량(률) 방사선이 영향에 대한 연구는 부족하다(1~7), 이것은 저선량과 저선량률 방사선에 대한 개념이 정립되어 있지 않았을 뿐만 아니라 낮은 선량의 방사선을 제작할 수 있는 시설이 없었기 때문이다. 일반적으로 방사선의 유·무해성을 연구하기 위해서 사람이나 동물유래 세포주를 이용하지만, 암 세포나 p53와 같은 유전자가 불안정하기 때문에 대체차원으로 확대하여 해석하기 어렵다. 이런 단점을 보완하기 위하여 마우스와 같은 실험동물을 이용하지만 종간에 차이를 보인다(8). 타나카 등 (2003)은 B6C3F1 마우스에 저선량률 방사선(1.1 mGy/일, 400 일)을 쬐이고 수명과 암 발생을(9), 이나 등 (2005)은 C57BL/6 마우스에 저선량률 방사선을 쬐인(1.2 mGy/시간, 258 일)후 수명연장과 면역세포 반응을 보고하였다(10). 그러나 일반 마우스는 흉선암 발생률이 낮기 때문에(11~14) 질병모델 마우스를 많이 이용한다. 이시히 등(1996)은 염색체에 마우스 백혈병 바이러스 유전자가 삽입되어 있어서, 자연적으로 흉선암이 발생하는 AKR/J 마우스에 50 mGy 와 150 mGy 의 X-선을 각 3회, 2회 분할 조사한 후 흉선암 감소를 확인하였다(15). 하지만, 선자들은 UNSCEAR(2000)이 요구하는 저선량(≤ 200 mGy)과 저선량률 범위를 만족시키지 못했다(≤ 6 mGy/시간)(16). 최근 우리는 저선량률 방사선(0.7 mGy/시간) 환경에서 사육한 AKR/J 마우스에서 흉선암 감소와 더불어 수명연장을 확인하고, 관련된 공통 유전자에 대하여 보고한 바 있다(17). 이 투고에서는 저선량률 방사선 조사된 AKR/J 마우스 흉선에서 관찰된 암 발병 조절 관련 면역유전자 기능에 대하여 기술한다.

2. 연구방법

마우스 : 이 연구를 위해서 AKR/J 마우스(7주령, 암컷)을 일본 SLC에서 구입하여, 온도($23 \pm 2^\circ \text{C}$), 습도($50 \pm 10\%$)와 광선(12시간 주기)이 자동조절되는 저선량 방사선 조사 시설 내 비방사선 구역에서 사육하였다.

- **저선량률 방사선 :** 저선량률 방사선 조사는 방사선보건 연구원에 설치되어 있는 저선량률 조사기(137CS, 0.7 mGy/시간)를 이용하였다(최종 누적선량: 4.5 Gy).
- **고선량률 방사선 :** 저선량률 방사선의 영향을 해석하는데 있어서 비교자료로 제공하기 위하여 감마선 발생장치(137Cs, 0.8 Gy/분, CIS Bio-international, 프랑스)를 이용하여 고선량률 방사선을 쬐었다(4.5 Gy).
- **생존률과 흉선암 발생률 :** 고선량률과 저선량률 방사선을 쬐인 AKR/J 마우스 평균 생존일은 Kaplan-Meier, Wilcoxon 방법을 이용하여 계산하였다. 각 실험군은 90 마리로 구성하였으며, 실험과정에서 죽은 마우스는 부검 후 흉선을 채취하고, H&E 염색 (Hematoxylin 과 Eosin) 하였다.
- **마이크로어레이 :** 고선량률 및 저선량률 방사선 조사를 위한 마우스와 별도로 유전자 분석용 마우스(각 10 마리/군)를 사육하였다. 방사선 조사 후 흉선암에 의하여 폐사가 관찰되는 시점(130일)에서 흉선을 채취하여 Agilent사에서 제작한 마이크로어레이 칩을 이용하여 유전자 발현을 분석하였다. AKR/J 마우스 흉선암 발병 특성을 고려하여 암 발병단계(DNA 회복, DNA 손상 신호, 세포주기, 암 진행도 지표, p53 신호계, 세포고사, T와 B - 세포 활성)를 구분하였다. 이 연구에서는 면역관련 유전자만을 분석하였다.

- 통계분석 : 고선량을 및 저선량을 방사선을 쬐인 마우스의 시간경과에 따른 생존율은 Kaplan-meier 분석하였다. 선량군간 흉선암 발생률은 통계프로그램인 SAS(ANOVA, t-test)를 이용하여 분석하였다.

3. 연구결과 및 고찰

1) 저선량을 방사선 환경에서 사육된 마우스에서 흉선암 발생이 억제되면서 수명이 연장되었다.

이 연구를 위해서 수명이 1년이고, 흉선암에 의하여 1년 이내에 폐사하는 AKR/J 마우스(18)를 저선량을 방사선 환경에서 사육하면서 최종 누적선량이 4.5Gy에 도달하는 동안 생존율 및 흉선암 발생률을 관찰하였다. 그 결과 고선량을 방사선을 쬐인 마우스에 비교해 생존율이 높았을(p=0.05)뿐만 아니라 수명도 연장(35일)되었다. 이 연구를 통하여 연장된 수명을 인간(평균수명 80살) 나이로 환산하면 약 4년이 연장된 것이다(캘리포니아대학 자료 참고). 한편, 흉선 암 발생률은 고선량을 조사된 마우스에 비교하여 약 20% 감소하였다. 이 연구결과는 저선량을 방사선 환경에서 평생 사육된 AKR/J 마우스에서는 흉선세포 염색체에 암 유전자가 삽입되어 있어 손상된 DNA가 회복됨으로써 암 발생이 감소 또는 치유되고 있다는 것을 의미하는 것이다. 이 연구결과는 Radiation Research를 통하여 발표하였다(17).

2) 저선량을 방사선 조사된 마우스에서 면역유전자가 활성화되고 흉선암이 감소되었다.

이 연구에서 방사선을 쬐인 AKR/J 마우스 흉선에서 발현되는 면역관련 유전자를 정리하여 본 바, 저선량을 방사선을 쬐인 마우스에서 IgM (Igh6, MGC60843), IgG (Fcgr2b, Fcgr3)와 백혈구 (Lilrb3) 활성화관련 유전자들이 증가하였다(표 1과 2). 특히, B-전구세포 마커인 Igh6와 MGC60843(19)의 발현은 흉선표면에서 B-세포가 증가되고 있다는 것을 나타낸다(20, 21). 염증 면역반응 초기단계에서 작용하는 Fcgr3 (FcgammaRIII)와 Fcgr2b (FcgammaRIIB)(22)와 면역반응을 통해 암 세포를 제거하는 Lilrb3 (Leukocyte immunoglobulin-like receptor B3)가 증가하였다(23, 24). T, B와 NK-세포 발달에 중요한 역할을 하면서 항암성 면역반응을 촉진하는 Notch 리간드인 Jag2 (Jagged2)가 증가되었다(25, 26). 이것은 저선량을 방

사선이 세포성(27) 및 체액성 면역반응을 증가시키고, 손상된 DNA나 암 세포를 신체에서 제거하고 있다는 것을 나타낸다(그림 1).

3) 고선량을 방사선 조사된 마우스에서 면역유전자가 억제되고 흉선암이 증가되었다.

저선량을 방사선과 다르게 고선량을 방사선을 쬐인 마우스에서 면역관련 유전자가 감소되었는데, 세포고사를 유도하여 암 발달을 억제하는 Sp3 (Trans-acting transcription factor 3) (28), NK-세포를 자극하는 Il15 (Interleukin 15) (29), TCR/CD3 복합체 T-세포 수용체인 Cd3e (CD3 antigen, epsilon polypeptide) (30), 손상세포나 암 세포를 인지한 후 면역반응을 유도하는 Traf6 (Tnf receptor-associated factor 6) (31), T와 NK-세포 활성을 표시하는 Il2ra (Interleukin 2 receptor, alpha chain) (32), V(D)J 재조합을 조절하여 림프구 발달을 촉진하는 Rag2 (Recombination activation gene 2) (33), TCR/CD3 복합체의 T-세포 수용체와 결합해 활성을 자극하는 CD28 (34), 암 발생 최종단계에서 T-세포 발달에 영향을 미치는 Cbfb (Core binding factor beta) (35)가 그 것이다. 이 것은 세포성 면역반응이 억제되면서(21, 36, 37) 암 발달이 촉진되고 있다는 것을 나타낸다. 또한, 직장 암 발달에 관여하는 Pik3r1 (Phosphatidylinositol 3-Kinase Regulatory Subunit p85 α) (38), 암 발생 이전에 관여하는 Cxcr4 (Chemokine (C-X-C motif) receptor 4) (39)가 감소하였다. 흥미롭게도, pro-inflammatory cytokine Ifng (Interferon-gamma) (40), 초기 T-세포 발달에 관여하는 Igbp1 (Immunoglobulin binding protein1) (41), T와 B-세포 발달에 관여하는 Il7 (Interleukin 7) (42)가 증가하였다. 이 것은 고선량을 방사선을 쬐인 마우스 흉선에서 손상세포를 제거하려는 활동이 동시에 이루어지고 있다는 것을 나타낸다.

4. 종합정리

AKR/J 마우스를 저선량을 방사선(0.7 mGy/시간) 환경에서 평생 사육한 결과, 1) 흉선암이 감소(15%)하면서 수명이 증가(35 일)되었다. 2) 흉선암이 원인이 되어 죽기 시작하는 시점(130 일)에서 흉선을 채취하여 유전자를 분석한 결과, 저선량을 방사선을 쬐인 마우스에서 면역관련 유전자(Igh6, MGC60843, Fcgr2b, Lilrb3, Fcgr3, Jag2)가 증가하였다.

3) 그러나 고선량을 방사선을 쬐인 마우스에서는 세포고사 (Sp3), NK 세포(IL15, Cd3e)와 림프구(Rag2, CD28, Cbfb), 관련 유전자가 감소하였다. 즉, 저선량 방사선이 마우스 세포고사와 면역세포를 증가시켜 암 세포나 암으로 변해가는 세포를 죽이면서 신속히 신체에서 제거하는 반면, 고선량 방사선은 세포고사와 면역반응을 억제하여 암 발생을 증가시켰다. 현재 방사선 특이 반응 유전자들을 발굴하는 연구가 계속 수행 중에 있다. ▽

유전자	고선량 방사선	저선량 방사선
Igh-6	2,511	2,611
MGC60843	3,148	2,601
Fcgr2b	2,062	2,51
Fcgr3	2,48	2,256
Jag2	0,626	2,256
Iing	3,345	1,366
Igbp1	2,307	1,684
IL7	2,151	1,29
Lilrb3	2,265	2,447

표 1. 고선량(0.8 Gy/분)과 저선량(0.7 mGy/시간) 방사선을 쬐인 AKR/J 마우스 흉선에서 2배 이상 증가된 면역관련 유전자. 비조사군 마우스에 대한 상대적 유전자 발현량을 수치화 하였음.

유전자	고선량 방사선	저선량 방사선
Sp3	0,101	0,808
IL15	0,433	1,66
Cd3e	0,439	0,691
Traf6	0,373	1,024
IL2ra	0,476	0,857
Rag2	0,46	0,643
CD28	0,48	0,718
Cbfb	0,102	0,61
Pik3r1	0,236	0,913
Cxcr4	0,236	0,505
Ppp3cb	0,405	0,709
Hells	0,311	0,956

표 2. 고선량(0.8 Gy/분)과 저선량(0.7 mGy/시간) 방사선을 쬐인 AKR/J 마우스 흉선에서 2배 이하 저하된 면역관련 유전자. 비조사군 마우스 대비 상대적 유전자 발현량을 수치화 하였음.

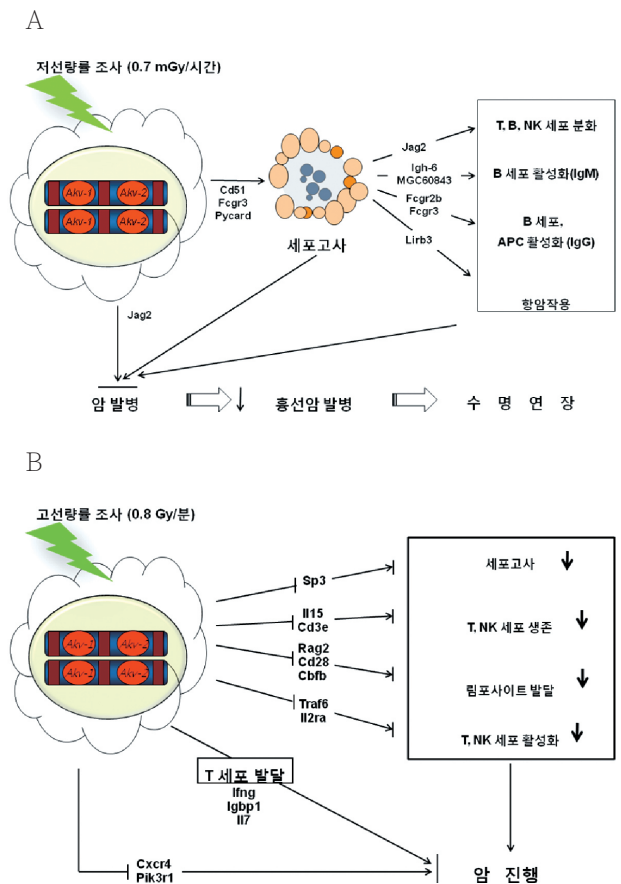


그림 1. 고선량과 저선량 방사선 조사된 AKR/J 마우스 흉선에서 발현된 유전자 정리

A 저선량 방사선 조사된 AKR/J 마우스 흉선에서는 세포고사 (Cd51, Fcgr3, PYCARD), 세포성(T, NK-세포)과 체액성(B-세포) 면역(Lib3, Igh6, MGC60843, Fcgr2b, Fcgr3, Jag2) 유전자가 증가되면서 암 세포를 죽이고 신체에서 제거하였다.
 B, 고선량 방사선 조사된 AKR/J 마우스 흉선에서는 T 와 NK-세포 활성 관련 유전자들(IL15, Cd3e, Sp3, Traf6, Il2ra, Rag2, CD28, Cbfb) 이 감소되면서 암 발생이 증가하였다.

참고 문헌

1. Park SH, Lee Y, Jeong K, Yoo SY, Cho CK, Lee YS, Different induction of adaptive response to ionizing radiation in normal and neoplastic cells, Cell. Biol. Toxicol. 1999; 15: 111-9.
2. Lee SJ, Choi SA, Cho CK, Kim TH, Jeong KS, Yoo YS, Adaptive response is differently induced depending on the sensitivity to radiation-induced cell death in mouse epidermal cells, Cell. Biol. Toxicol. 2000; 16: 175-84.
3. Gong SL, Liu SC, Liu JX, Zhang YC, Liu SZ, Adaptive response of thymocyte apoptosis and cell cycle progression induced by low dose X-ray irradiation in mice, Biomed. Environ. Sci. 2000; 13: 180-8.
4. Kim CS, Kim JM, Nam YS, Yang KH, Jeong MS, Kim HS, Lim YK, Kim CS, Jin YW, Kim J, Low-dose ionization enhance cell proliferation via transient ERK1/2 and p38 activation in normal human lung fibroblasts, J. Radiat. Res. 2007; 48: 407-415.

5. Cai L, Liu SZ. Induction of cytogenetic adaptive response of somatic and germ cells in vivo and in vitro by low-dose X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 1990; 58: 187–94.
6. Cai L, Jiang J, Wang B, Yao H, Wang X. Induction of an adaptive response to dominant lethality and to chromosome damage of mouse germ cells by low dose radiation. *Mutat. Res.* 1993; 303: 157–61.
7. Shin SC, Kang YM, Jin YW, Kim HS. Relative morphological abnormalities of sperm in the caudal epididymis of high- and low-dose-rate gamma-irradiated ICR mice. *J. Radiat. Res.* 2009; 50: 261–6.
8. Mucenski ML, Bedigian HG, Shull MM, Copeland NG, Jenkins NA. Comparative molecular genetic analysis of lymphomas from six inbred mouse strains. *J. Virol.* 1988; 62: 839–46.
9. Tanaka S, Tanaka IB, 3rd, Sasagawa S, et al. No lengthening of life span in mice continuously exposed to gamma rays at very low dose rates. *Radiat. Res.* 2003; 160: 376–9.
10. 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: 153–8.
11. Kazuko Y. Radiation induced leukaemia (animal experience). *Radiation and blood*. Practical Hematology. 1997; 7: 27–33.
12. Ullrich RL, Storer JB. Influence of gamma irradiation on the development of neoplastic disease in mice. I. Reticular tissue tumors. *Radiat. Res.* 1979; 80: 303–16.
13. Ullrich RL, Storer JB. Influence of gamma irradiation on the development of neoplastic disease in mice. III. Reticular tissue tumors. *Radiat. Res.* 1979; 80: 325–42.
14. Ina Y, Sakai K. Prolong of life span associated with immunological modification by chronic low-dose-rate irradiation in MRL-*lpr/lpr* mice. *Radiat. Res.* 161, 2004; 168–173.
15. Ishii K, Hosoi Y, Yamada S, Ono T, Sakamoto K. Decreased incidence of thymic lymphoma in AKR mice as a result of chronic, fractionated low-dose total-body X irradiation. *Radiat. Res.* 1996; 146: 582–5.
16. UNSCEAR. Volume I and II. United Nations sales publication E.00X.3 and E.00X.4 United Nations, New York, 2000.
17. Shin SC, Kang YM and Kim HS. Life-span and Thymic Lymphoma Incidence in High- and Low-dose-rate Irradiated AKR/J Mice and Commonly Expressed Genes. *Radiat Res.* 2010; 174(3), 341–6.
18. Mayers D.D., Meier H., Huebner R.J. Prevalence of murine C-type RNA virus group specific antigen in unbred strains of mice. *Life. Sci.* 1970; 9, 1071–1080.
19. S. Mori, M. Inaba, A. Sugihara, S. Taketani, H. Doi, Y. Fukuba, Y. Yamamoto, Y. Adachi, K. Inaba and S. Ikehara. Presence of B cell progenitors in the thymus. *J. Immunol.* 1997; 158: 4193–4199.
20. Akashi K, Richie LJ, Miyamoto T, Carr WH, Weissman IL. B lymphopoiesis in the thymus. *J. Immunol.* 2000; 164: 5221–6.
21. T. Ina and K. Sakai. Prolongation of life span associated with immunological modification by chronic low-dose-rate irradiation in MRL-*lpr/lpr* mice. *Radiat. Res.* 2004; 161: 168–173.
22. Yada A, Ebihara S, Matsumura K, et al. Accelerated antigen presentation and elicitation of humoral response in vivo by Fc γ RIIB- and Fc γ RIII-mediated immune complex uptake. *Cell. Immunol.* 2003; 225: 21–32.
23. Samaridis J, Colonna M. Cloning of novel immunoglobulin superfamily receptors expressed on human myeloid and lymphoid cells: structural evidence for new stimulatory and inhibitory pathways. *Eur. J. Immunol.* 1997; 27: 660–5.
24. Tedla N, Lee CW, Borges L, Geczy CL, Arm JP. Differential expression of leukocyte immunoglobulin-like receptors on cord-blood-derived human mast cell progenitors and mature mast cells. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 83: 334–43.
25. Kijima M, Yamaguchi T, Ishitune C, et al. Dendritic cell-mediated NK cell activation is controlled by Jagged2–Notch interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008; 105: 7010–5.
26. Candi E, Ruffini A, Terroni A, et al. DeltaNp63 regulates thymic development through enhanced expression of FgfR2 and Jag2. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2007; 104: 11999–2004.
27. Lacoste-Collin L, Jozan S, Cances-Lauwers V, et al. Effect of continuous irradiation with a very low dose of gamma rays on life span and the immune system in SJL mice prone to B-cell lymphoma. *Radiat. Res.* 2007; 168: 725–32.
28. Essafi-Benkhadir K, Grosso S, Puissant A, et al. Dual role of Sp3 transcription factor as an inducer of apoptosis and a marker of tumour aggressiveness. *PLoS. One.* 2009; 4: e4478.
29. Shanmugham LN, Petrarca C, Frydas S, et al. IL-15 an immunoregulatory and anti-cancer cytokine. *Recent advances. J. Exp. Clin. Cancer. Res.* 2006; 25: 529–36.
30. De Smedt M, Taghon T, Van de Walle I, De Smet G, Leclercq G, Plum J. Notch signaling induces cytoplasmic CD3 epsilon expression in human differentiating NK cells. *Blood.* 2007; 110: 2696–703.
31. Qin J, Konno H, Ohshima D, et al. Developmental stage-dependent collaboration between the TNF receptor-associated factor 6 and lymphotoxin pathways for B cell follicle organization in secondary lymphoid organs. *J. Immunol.* 2007; 179: 6799–807.
32. Alcina A, Fedetz M, Ndagire D, et al. IL2RA/CD25 gene polymorphisms: uneven association with multiple sclerosis (MS) and type 1 diabetes (T1D). *PLoS. One.* 2009; 4: e4137.
33. Tsuji H, Ishii-Ohba H, Noda Y, Kubo E, Furuse T, Tatsumi K. Rag-dependent and Rag-independent mechanisms of Notch1 rearrangement in thymic lymphomas of *Atm*($-/-$) and *scid* mice. *Mutat. Res.* 2009; 660: 22–32.
34. Weng NP, Akbar AN, Goronzy J. CD28(-) T cells: their role in the age-associated decline of immune function. *Trends. Immunol.* 2009; 30: 306–12.
35. Talebian L, Li Z, Guo Y, et al. T-lymphoid, megakaryocyte, and granulocyte development are sensitive to decreases in CBFbeta dosage. *Blood.* 2007; 109: 11–21.
36. Gridley DS, Rizvi A, Luo-Owen X, Makinde AY, Pecaut MJ. Low dose, low dose rate photon radiation modifies leukocyte distribution and gene expression in CD4(+) T cells. *J. Radiat. Res.* 2009; 50: 139–50.
37. Tanaka K, Kohda A, Satoh K, et al. Dose-rate effectiveness for unstable-type chromosome aberrations detected in mice after continuous irradiation with low-dose-rate gamma rays. *Radiat. Res.* 2009; 171: 290–301.
38. Li L, Plummer SJ, Thompson CL, Tucker TC, Casey G. Association between phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit p85alpha Met326Ile genetic polymorphism and colon cancer risk. *Clin. Cancer. Res.* 2008; 14: 633–7.
39. Chen GS, Yu HS, Lan CC, et al. CXC chemokine receptor CXCR4 expression enhances tumorigenesis and angiogenesis of basal cell carcinoma. *Br. J. Dermatol.* 2006; 154: 910–8.
40. Labeur M, Relejo D, Wolfel B, et al. Interferon-gamma inhibits cellular proliferation and ACTH production in corticotroph tumor cells through a novel janus kinases-signal transducer and activator of transcription 1/nuclear factor-kappa B inhibitory signaling pathway. *J. Endocrinol.* 2008; 199: 177–89.
41. Hua DR, Inui S, Yamashita T, et al. T cell-specific gene targeting reveals that alpha4 is required for early T cell development. *Eur. J. Immunol.* 2003; 33: 1899–906.
42. van Roon JA, Glaudemans KA, Bijlsma JW, Lafeber FP. Interleukin 7 stimulates tumour necrosis factor alpha and Th1 cytokine production in joints of patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2003; 62: 113–9.