

골다공증 모델의 뼈 재생기에 있어 셀레늄(Selenium)의 방사선 보호작용

김 현^{1,2} · 조상래³ · 최창용¹ · 성환후^{1*}

¹농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원센터, ²Tokyo 대학 수의생리학 교실,

³농촌진흥청 국립축산과학원 한우연구소

Anti-Ionizing Radiation Effect of Selenium on Osteoporosis Model during Bone Repair Process

Hyun Kim^{1,2}, Sang-Rae Cho³, Changyong Choe¹ and Hwan-Hoo Seong^{1*}

¹Animal Genetic Resources Station, National Institute of Animal Science, RDA, Namwon 590-832, Korea

²Dept. of Veterinary Physiology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-8657, Japan

³Hanwoo Research Station, National Institute of Animal Science, RDA, PyeongChang 25340, Korea

ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential trace element for humans and animals, and several findings suggest that dietary Se intake may be necessary for bone health. Accumulating evidence indicates that Se compounds possess anticancer properties. Se is specifically incorporated into proteins in the form of selenocysteine and non-specifically incorporated as selenomethionine in place of methionine. This study evaluated protection by Se in the bone repair process in ovariectomized rats after irradiation. For such purpose, 80 ovariectomized female Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 experimental groups: ovariectomized (Ov), Ov/Se, Ov/irradiated (Irr) and Ov/ Se/Irr. A bone defect was created on the tibia of all animals 40 days after ovariectomy. Two days after surgery, only the Ov/Se and Ov/Se/Irr rats received 0.8 mg Se/kg. Three days after surgery, only the Ov/Irr and Ov/Se/Irr rats received 10 Gy of X-rays on the lower limb region. The animals were euthanized at 7, 15, 22 and 29 days after surgery to assess the repair process, which was evaluated by analysis of trabecular bone number (Masson Trichrome) and birefringence analysis (Picosirius). It was possible to observe a delay in the bone repair process in the ovariectomized/irradiated group and similarity between the ovariectomized, Ov/ Se and Ov/Se/Irr groups. Our findings suggest that sodium selenite may influence a radioprotective effect in the bone repair of tibia of ovariectomized rats without toxicity.

(Key words: radiotherapy, osteoporosis, selenium, ovariectomy)

서 론

골은 대사 작용을 하는 활성 조직으로 잘 알려져 있으며, 그런 활성은 조직의 온전성(integrity) 보전 및 몸의 항상성(homeostasis)을 유지하는데 반드시 필요하다. 여성호르몬의 일종인 에스트로겐(estrogen)은 골의 재생 과정에 관여하고, 골 흡수와 골 형성 간의 균형을 조절하는 중요한 인자로 알려져 있다 (Iwaniec *et al.*, 2006). Comelekoglu 등(2007)은 특히, 난소조

직은 에스트로겐의 주요 공급원이고, 난소기능 상실의 결과, 골격질량을 유지하는 내분비 호르몬들의 감소를 초래한다고 보고했다. 여성의 폐경(postmenopausal) 혹은 외과적인 수술과정 등에 기인한 에스트로겐 결핍의 결과로 인한 부작용은 이 분야 연구의 주요한 관심사이다. 실험용 흰쥐의 골은 골다공증(osteoporosis)의 임상연구에 널리 쓰이는 모델로 잘 알려져 있다 (Comelekoglu *et al.*, 2007; Iwaniec *et al.*, 2006). 난소 적출술(Ovariectomy)은 설치류와 사람의 골에서 유사한 조직학적인

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ009418)에서 연구비를 지원 받았습니다.

This work was carried out with the support from the Agenda Program (No. PJ009418022014) Rural Development Administration, Republic of Korea.

This work was supported by 2014 PostDoctoral Fellowship Program of National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

* Correspondence : kim7268@korea.kr

변화와 관련이 있고, 이는 여성의 폐경기 이후의 골 소실에 관해 유익한 정보를 제공할 수 있다.

외과적인 수술과 방사선 치료에 의해서 악성병변(Malignant lesions)이 발생할 수 있다. 이온화 방사선은 주로 진단 및 치료 목적으로 사용되지만, 지질과산화(lipid peroxidation)를 초래하고, 최종적으로는 세포사멸(apoptosis)을 유도하는 등, 유해한 효과를 초래하기도 한다고 보고되었다(Williams and Davies, 2006; Chicarelli *et al.*, 2007; Sakurai *et al.*, 2007; Rocha *et al.*, 2009). Chicarelli 등(2007)의 연구팀은 에스트로겐 결핍과 방사선 치료의 조합은 새로운 골 형성과정을 방해하고, 재흡수 과정을 촉진한다고 보고하였다(Chicarelli *et al.*, 2007). 그러므로 외상(trauma) 후의 치유는 방사선에 조사되었거나, 폐경기 이후에 약화된 것으로 생각된다.

방사선 보호 약품들은 정상적인 조직들에서 이와 같은 유해한 작용들을 최소화하기 위해서 개발되어 왔다. 이런 약품들은 활성화 산소(free radicals)를 제거하거나, 간접적인 방법으로 글루타티온 과산화효소(peroxidase glutathione)와 같은 항산화 효소들의 증가를 촉진한다고 알려져 있다. 셀레늄(Selenium; Se)은 1817년 초기에 Berzelius에 의해 발견되었고, 필수미량원소로 잘 알려져 있다(Schwarz and Foltz, 1999). 셀레늄은 주로 셀레노 메티오닌과 셀레노 시스테인으로 빵, 시리얼, 호두, 고기 및 생선과 같은 음식물에 존재하며, 음식물에서의 셀레늄 양과 형태는 아주 다양하고, 토양의 셀레늄 함량과 구성에 의존한다(Molnár *et al.*, 1995; Rayman *et al.*, 2008). Stewart 등(1999)은 셀레늄은 방사선 보호 작용을 하는 항산화 효소의 구성성분이라는 것을 밝혔다. 외과적인 수술과 방사선 치료의 조합은 일부 악성 종양의 치료를 위해서 여전히 사용되고 있기 때문에, 조직회복과 관련하여 방사선 방어 약품의 효과 등을 평가하는 것은 매우 중요하다.

골다공증은 골의 취약성을 초래하기 때문에 이온화 방사선은 방사선 치료를 받은 에스트로겐 결핍 환자의 골 재생과정에 어려움을 유발하기도 한다. 본 연구의 목적은 나트륨 셀레늄산염(sodium selenite) 투여가 난소가 적출된 흰쥐의 골 재생 과정에 있어 이온화 방사선 유도 손상을 줄일 수 있는지를 조사한 연구이다.

재료 및 방법

1. 실험동물

암컷흰쥐(Sprague-Dawley, 9주령, 212~282 g) 20마리를 구입하여 일주일간 적응 및 사육시켰으며, 온도 23±1℃, 습도 55%, 12/12 hrs 명·암주기(light/dark, 07:00), 사료와 음수를 자유급식시켰다. 일주일간의 적응 및 사육 후, 난소 적출술(Ovariectomy, OVX)을 하였으며, 수술 후 1주일 후부터 Selevit(Sodium

selenite, Sigma Chemical Co, USA, 0.5 mg/ml) 투여를 실시하였다. 실험동물은 무작위로 (a) Ovariectomized(Ov군), (b) 방사선 조사 과정 전에 양쪽의 난소적출을 한 Ovariectomized/irradiated(Ov/Irr군), (c) 방사선 조사 없이 sodium selenite 0.75 mg/kg 복강 내 투여를 한 ovariectomized/selenium(Ov/Se군), (d) X-선 방사선 조사 24시간 전에 sodium selenite 0.75 mg/kg 복강 내 투여를 한 ovariectomized/selenium/irradiated(Ov/Se/Irr)의 4가지 처리군으로 구분하였다. 난소 적출술의 성공 확인은 자궁각의 현저한 위축을 관찰로 구분하였다. 본 연구에 사용된 실험동물은 일본 도쿄대학교 농업생명과학연구과 수의과학대학 동물실험 윤리위원회의 A-10-1214 승인 하에 진행하였다.

2. 난소적출술

Ketamine/xylazine 마취(80/10 mg/kg)후 요추 1번과 3번의 배부위(Dorsal region)를 삭모한 후, 정 중양을 피부 절개하였다. 난소적출을 위하여 피부절개 후, 요추에서 좌우 1 cm 떨어진 부위를 절개하여 난소를 노출시켜 적출하였다. Sham 실험군은 난소를 노출시킨 후, 다시 복원시켜 근육 및 피부봉합을 실시하였다.

3. 골 손상 유도모델

난소 적출 후 40일째 흰쥐의 체중을 측정하고, ketamine chlorhydrate(0.1 mg/kg)를 근육 주사하여 마취해 골 조직 재생을 평가하기 위해서 경골에서 골 결손을 유도하였다. 골 표면의 3×1.5×0.5 mm 결손을 유도하기 위해 식염수 관류 하에서 느린 속도로 size 8 carbide bur(KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil)를 이용해 모든 흰쥐의 경골(피질골)에 구멍을 뚫었다. 골 결손 절차(방사선 조사 24시간) 후, 2일째, Ov/ Se과 Ov/Se/Irr 군의 흰쥐는 복강주사(0.75 mg/kg sodium selenite/distilled water)를 실시했다. 나머지 처리군들은 증류수 만을 복강주사하였다. 골 결손 과정(Se 투여 후, 24시간)후, 3일째 흰쥐를 마취시키고, Ov/Irr 군과 Ov/Se/Irr 군은 limb region에서 10 Gy의 X-방사능(Varian, Clinic 6/100, 100 cm source-target distance, 15×30 cm field)에 한번 급성노출을 실시했다. Ov 군과 Ov/Se의 처리군은 마취를 했지만, 방사선 조사는 하지 않았다.

시료 채취는 골 결손 수술 후, 7, 15, 22 그리고 29일째에 각각 실시를 하였다. 경골(tibias)을 제거한 후, 10% formaldehyde buffer에 72시간 보관했다. 골 시료는 5% EDTA(Titriplex III, ACS, ISO; Merck, Darmstadt, Germany)에 탈수시키고, 파라핀으로 끼우며, 5~6 μm 두께로 세로로 절편을 만들고, Masson's Trichrome과 Picrosirius로 염색을 각각 실시했다. 골 표면의 면적밀도를 측정하기 위해서 골 결손의 중간 그리고 옆 부분의 각각 다른 세 군데 영역을 측정하였다. 시료는 Masson Trichrome 염색한 후, 광학현미경(×40)으로 관찰하였다. 복 굴절 분

석(birefringence analysis)을 위해서 Picrosirius 염색한 시료들은 CX31-P polarized light microscope($\times 10$)(Olympus, Tokyo, Japan)와 microcamera(CCD/RGB Color Sony, Tokyo, Japan)을 이용해 각각 디지털화 분석 작업을 실시했다. 분석시스템(KS 400 2.0; Kontron Electronics, Munich, Germany)으로 골 결손의 중앙 부분을 측정했다.

4. 통계적 분석

본 시험에서 얻어진 모든 자료들의 통계 ANOVA와 처리구 간에 유의성은 Tukey's test를 이용하여 유의적인 $P < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결 과

1. 골 조직 면적밀도의 정량적 평가

평가기간 동안의 골 조직에서 면적밀도의 평균값은 Table 1과 같다. 7일째, Ov/Se 처리구가 유의적으로 가장 높은 값($P < 0.05$)을 나타내고, Ov/Se/Irr 군과 Ov 군 간에는 유의적인 차이는 없었다. Ov/Irr 군이 나머지 군과 비교해 유의적($P < 0.05$)으로 가장 낮은 값을 나타냈다. 15일째, Ov/Irr 군에서 또한 가장 낮은 값을 확인하였고, 나머지 군 간의 비교에서 통계적으로 유의적($P < 0.05$)인 차이를 나타냈다. 하지만 Ov 군, Ov/Se 군 그리고 Ov/Se/Irr 군($p > 0.05$) 간에서는 유의적인 차이는 없었다. 22일째, Ov 군이 나머지 군과의 유의적($P < 0.05$)으로 차이가 나

고, 가장 높은 영역밀도를 나타냈다. 또한 Ov/Irr 군은 가장 낮은 값을 나타냈다($P < 0.05$). Ov/Se 군과 Ov/Se/Irr 군의 값이 Ov 군보다 낮지만, Ov/Irr 군보다는 더 높음을 확인하였다. 골 회복 29일째, Ov 군과 Ov/Se/Irr 군은 다른 두 군과는 유의적으로 높은 값을 나타내지만, 두 처리구 간에는 유사한 값을 나타내었다.

2. Picrosirius 염색에 의한 콜라겐 섬유지역의 정량적인 평가

평가기간 동안 콜라겐 섬유의 영역에 대한 평균값은 Table 2와 같다. 7일째, Ov 군, Ov/Se 군 그리고 Ov/Se/Irr 군은 더 큰 복 굴절 값을 나타내었으며, Ov/Irr 군은 Ov 군과 Ov/Se/Irr 군들 간의 유의적($P < 0.05$)으로 가장 낮은 값을 나타낸다. 골 회복과정 15일 후, 비슷한 양상인 Ov 군, Ov/Se 군 그리고 Ov/Se/Irr 군은 높은 값을 나타내고, Ov/Irr 군은 다른 나머지 세 군과 비교해 유의적($P < 0.05$)으로 다르고, 가장 낮은 값을 나타냈다. 22일째, Ov/Se/Irr 군에서 평균 복 굴절 값이 가장 높았고, 나머지 세 군과 비교해서 유의적($P < 0.05$)으로 다른 값을 나타냈다. Ov 군과 Ov/Se 군 간에는 유의적($p > 0.05$)인 차이는 없었지만, Ov/Irr 군과 다른 군 간에는 유의적($P < 0.05$)인 차이가 있었다. 골 회복 과정 29일 후, Ov/Se/Irr 군은 여전히 가장 높은 값을 나타내지만, Ov 군과의 유의적($p > 0.05$)인 차이는 보이지 않았다. Ov/Irr 군과 나머지 군 간에는 유의적($P < 0.05$)인 차이가 있었다.

고 찰

Table 1. Means and standard deviations of the area density (cm^2) in the bone tissue at 7,14, 21 and 28 days of the repair process

Time (days)	Ov	Ov/Irr	Ov/Se	Ov/Se/Irr
7	65.1(5.31) ^b	41.1(3.25) ^c	78.1(6.13) ^a	74.2(5.15) ^{ab}
15	205.1(9.31) ^a	166.0(5.78) ^b	204.1(2.38) ^a	200.2(4.10) ^a
22	217.3(4.75) ^a	171.0(4.14) ^c	196.2(5.45) ^b	196.1(6.95) ^b
29	253.2(4.45) ^a	207.1(7.15) ^b	212.3(3.31) ^b	261.1(4.31) ^a

Means followed by different letters for each time differ significantly, with a significant p -value of 5% by the Tukey's test.

Table 2. Means and standard deviations of the area (cm^2) of birefringent bone organic matrix at 7, 14, 21 and 28 days of the repair process

Time (days)	Ov	Ov/Irr	Ov/Se	Ov/Se/Irr
7	2,409.2(260.10) ^a	1,811.2(90.11) ^b	2,080.1(105.04) ^{ab}	2,369.1(125.01) ^a
15	2,950.1(255.11) ^a	1,621.2(231.12) ^b	2,701.1(175.01) ^a	2,890.2(265.21) ^a
22	1,751.2(125.21) ^b	1,244.1(45.50) ^c	1,871.1(103.10) ^b	2,257.1(210.10) ^a
29	2,301.1(120.23) ^{ab}	1,869.2(85.11) ^c	2,199.1(111.01) ^b	2,398.1(89.01) ^a

Means followed by different letters for each time differ significantly with a significant p -value of 5% by the Tukey's test.

Meyer 등(2001)의 연구팀에 의하면 골 재생 과정은 시스템적이고, 국소적인 다양한 인자들의 영향을 받을 가능성 등을 보고했다. Chicarelli 등(2007)은 에스트로겐 호르몬 결핍과 같은 시스템적인 요소 그리고 이온성 방사선(ionizing radiation) 등과 같은 국소적인 요소들의 결합은 각각 골 재생 과정에서 좋지 않은 영향을 미친다고 확인하였다. 에스트로겐은 정상적인 골 교체 유지과정에서 가장 중요한 호르몬 중 하나이고, 결과적으로 동물과 여성에서 난소기능의 상실은 극적이고 가속적인 골 손실을 일으킨다고 보고했다(Anbinder *et al.*, 2007; Comelekoglu *et al.*, 2007). 흰쥐에서 난소 적출술(Ovariectomy)은 인간 골과 유사한 조직학적인 변화와 관련성이 있고, 흰쥐 모델은 인간 골 손실에 유익한 정보를 제공한다(Comelekoglu *et al.*, 2007; Iwaniec *et al.*, 2006). 이러한 골 손실은 특히, 여성들의 경우 골다공증(Osteoporosis)에 의해 더 자주 영향을 받는다고 알려져 있다. Eastell의 연구결과(2003)는 심각한 골 손실은 에스트로겐 결핍의 급성작용과 관련되어 있고, 골 취약성(bone fragility)을 증가시키는 노화 관련 인자들 간의 관련성이 있다고 보고했다. 몇몇 저자들(Iwaniec *et al.*, 2006; Anbinder *et al.*, 2007; Chicarelli *et al.*, 2007)은 골다공증 환자는 명백하게 골의 회복 및 재생 능력이 감소한다는 것을 확인하였다. 본 연구에서 난소적출 후, 40일째 골다공증을 유도하기 위해 골 결손을 시행했다(Giardino *et al.*, 1993). 건강한 골에 있어 그 재생과정과 방사선 조사 및 방사선 조사하지 않은 골(Williams and Davies, 2006; Chicarelli *et al.*, 2007; Sakurai *et al.*, 2007; Rocha *et al.*, 2009)을 이용한 골다공증 모델(Meyer *et al.*, 2001; Iwaniec *et al.*, 2006; Anbinder *et al.*, 2007; Chicarelli *et al.*, 2007)에 있어 골 재생과정의 차이에 관한 연구가 몇몇 보고되었는데, 연구결과 모두 대조군과 비교해서 난소 적출군과 방사선 조사군에서 골의 회복과 재생의 용량 감소가 확인되었다. 따라서 셀레늄이 골다공증에 있어 항산화적인 특징을 나타내는지 알아보기 위해 본 연구에서는 난소 적출술을 하지 않은 흰쥐는 포함시키지 않았다. 따라서 셀레늄 혹은 방사선 조사 처리를 하지 않은 난소 적출군이 대조군으로 고려되었다.

이온성 방사능은 기본적인 일차 치료 혹은 전이성 골 종양(bone malignancies)의 치료에서 일반적으로 많이 사용되어왔다. 골에 있어 이온성 방사능의 작용과 관련된 실제 메커니즘은 아직 밝혀지지 않은 실정이다. 하지만 방사능 관련 연구결과들은 파골세포(osteoclastic)와 골아세포(osteoblast)의 활성화 사이에 균형을 조절한다는 것을 밝혔다(Dudziak *et al.*, 2000; Szymczyk *et al.*, 2004). Gal 등(2000)의 연구팀의 조사에 의하면 방사선 조사된 세포 성장물의 억제와 조골세포(osteoblasts)의 콜라겐 생산물의 감소를 나타내기 때문에 조골세포(osteoblast)의 증식은 방사선에 의해서 억제된다고 보고하였다. Sakurai 등(2007)은 조골세포, 알칼리 포스파타아제(alkaline phosphatase)의 활성화 그리고 콜라겐 생산의 감소에 의해 골 형성을 방해하는 이온성 방사선의 치료용량을 제시하였다. 최근에 골다공증 환자를 위한 이온성 방사선은 진단 검사 혹은 치료 사용을 목적으로 많이 사용되고 있는 실정이다. 수술처치 후, 3일간 방사선 조사는 골과 외상(trauma)에 반응하는 용량 등에서 심각한 변화를 유발할 가능성 등을 고려해서 본 연구에서 수술처치 후, 3일 간 방사선 조사는 Chicarelli 등(2007)과 Rocha 등(2009)의 방법에 따라 실시했다. 골 재생과정에 중요한 영향을 미치는 감마선 8 G와 같은 높은 방사선량이 사용되었다. 10 G 용량을 사용한 이후, 모든 측정시간에서 방사선 그룹에서 골 재생 과정이 지연되는 것을 확인했다.

셀레늄 나트륨(sodium selenite)을 포함한 대부분의 셀레늄 파생품들의 항산화적인 특징은 잘 알려져 있고, 셀레늄 나트륨의 방사선보호 작용(radioprotective action)은 골다공증 뼈 외에도 인간 피부세포(Rafferty *et al.*, 1998), 위장관 상피세포(Mutlu-Turkoglu *et al.*, 2000), 타액선(Tuji *et al.*, 2010), 신장(Sieber *et al.*, 2009), 건강한 골(Rocha *et al.*, 2009) 등과 같은 몇몇 조직들에서 잘 알려져 있다. Stewart 등(1999)은 셀레늄의 항산화 작용은 활성화 산소(free radicals)에 의한 과산화(peroxidation) 작용을 억제하는 능력뿐만 아니라, 분자적인 손상을 회복하는 능력과도 관련이 있다고 보고하였다. 이런 모든 기능들은 항산화 효소로 잘 알려진 과산화효소 글루타티온(peroxidase glutathione)과 관련이 있을 것으로 생각된다.

수술 후, 정상적인 골 구조는 소실되고 유리 라디칼(free radicals)의 많은 수가 방출이 된다. 게다가 방사선 또한 그런 라디칼(radicals)들을 생성한다. 셀레늄 처리군은 본 연구에서 대조군과 Ov 군과 비교해 항산화 메커니즘을 통해 전 시험 기간 동안 더 높은 복 굴절과 골 밀도 값의 특징들을 제시하였다. 이러한 항산화제의 특징들은 22일째를 제외하고, 전 시험기간 동안 대조군과 비슷한 Ov/Se/Irr 군의 결과 값으로 확인이 가능하다. Ov/Se/Irr 군의 측정값이 Ov 군보다 낮지만, 골 재생에 유리한 골 밀도에 있어 Ov/Irr 군보다 더 높음을 확인했다. 게다가 복 굴절 분석에서 Ov/Se/Irr 군의 값은 대조군보다 더 높음을 확인했다. 예상된 시간에 골 재생이 일어났고, 골 지주(bone trabeculae)의 형성은 골 결손 준비 후, 7일째 관찰되었다. 15일째, 골 영역은 가골(bony callus) 형성 때문에 증가되었다. 22일째 골의 전체 영역은 감소되지만 골 밀도는 증가되었다. 29일째 골 밀도는 22일째와 유사하지만, 피질 골(cortical bone) 전체 영역은 두꺼웠다. 이런 양상은 모든 처리군에서 관찰이 되었지만, Ov/Irr 군은 항상 다른 군보다 느렸다. Ov/Irr 군의 값과 다른 처리군과의 차이는 초기에 더 높았다. 이런 결과들로부터 방사선 조사가 골 재생 과정의 초기에 더 큰 영향을 미쳤을 가능성이 생각되었다. 복 굴절 값은 또한 골 재생과 연관된다. 가골(bony callus)의 넓은 영역과 결과적으로 콜라

겐(collagen)의 더 많은 양이 확인된 15일째 가장 높은 값이 관찰되었다. 복 굴절과 골 밀도 간의 직접적인 정비례 관계도 확인했다. 이는 복 굴절의 더 큰 값은 더 많은 콜라겐을 의미하고, 결과적으로 면적밀도로 대표되는 골 지주(bone trabeculae)에 더 큰 값을 나타낸다. 일반적으로 가장 높은 복 굴절 값을 가진 군은 또한 면적밀도에 가장 높은 값을 가진다.

몇몇 연구들은 높은 용량의 셀레늄의 독성을 보고했다(Sieber *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2009; MacFarquhar *et al.*, 2010; Raines *et al.*, 2011). 따라서 방사선 보호작용에도 불구하고, 셀레늄 나트륨이 부작용을 일으킬 가능성을 배제할 수가 없다. 본 연구에서는 시험기간 동안에 독성 검출은 보이지 않았다. Jakob 등(2002)에 의하면 골세포에서 티오레독신 환원효소(reductase thioredoxin) 그리고 다른 셀레늄 단백질(selenoproteins)의 발현은 골 흡수(bone resorption) 및 골 재생의 조절에 있어서 중요한 의미를 지닌다고 보고하였다. Sandukji 등(2011)은 오스테오칼슘(osteocalcin)의 농도와 알칼리 포스파타아제(alkaline phosphatase)의 활성이 척추(long bones) 수술 후, 2주간 vitamins A, E, C 그리고 Se와 같은 항산화제를 투여한 환자들의 혈장에서 급격하게 증가하는 것을 보고했다. 이러한 결과들을 종합해서 생각해 보면 항산화제 주사투여는 골 치유를 촉진한다는 것을 시사한다. 비록 실험용 흰쥐 모델이 인간의 골 손실에 대한 유용한 정보를 제공한다고 해도 인간을 대체한 실험동물을 이용한 연구에는 몇 가지 제약들이 존재한다. 이런 이유들 때문에 본 연구에서 확인한 결과들은 방사선 조사된 골다공증 뼈의 회복에 있어 셀레늄 나트륨(sodium selenite) 효과를 평가한 중요한 결과를 제시했다. 셀레늄의 연구들은 방사선 치료가 필요한 암 환자들을 대상으로 수행되어져 왔다. Buntzel 등(2010)은 셀레늄이 미각의 민감성(taste sensitivity)과 연하곤란(dysphagia)의 손실을 줄여 줄 가능성을 발표하였다. 방사선조사 후, 골 회복 및 재생 과정에서 셀레늄 나트륨(sodium selenite)의 작용은 Rocha 등(2009)의 연구결과와도 일치한다. 본 연구의 결과를 기초로 방사선 치료 시에 방사선 보호인자의 사용을 통해 환자의 삶의 질 개선에도 기여할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 방사선 조사 후, 난소 적출을 한 흰쥐에 있어서 골 회복과정 중에 셀레늄(Se)에 의한 보호 작용을 평가한 연구이다. 목적 수행을 위해 난소 적출술을 실시한 암컷 Sprague-Dawley계 흰쥐 80마리를 무작위로 ovariectomized(Ov), Ov/Se, Ov/irradiated(Irr) 그리고 Ov/Se/Irr와 같이 4개의 처리군으로 구분하였다. 골 결손은 난소적출(ovariectomy) 후, 40일에 모든 공시동물의 경골(tibia)에서 만들어졌다. 수술 후, 48시간에 Ov/Se

군과 Ov/Se/Irr 처리구의 흰쥐에만 0.8 mg Se/kg을 투여하였다. 수술 후, 72시간에 Ov/Irr 군과 Ov/Se/Irr 처리구의 흰쥐에만 10 Gy의 X-rays 조사를 사지부위(limb region)에 실시하였다. 수술 후, 모든 공시동물은 7, 15, 22 그리고 29일에 안락사를 시키고, 섬유주골형(trabecular bone)의 개수 분석(Masson Trichrome)과 복 굴절 분석(Picrosirius)에 의해서 골 회복과정을 평가하였다. 난소적출한 군 및 방사선 조사한 군에서 골 재생 과정이 지연되는 현상을 확인이 가능하였다. 결론적으로, 셀레늄(sodium selenite)은 독성 없이 난소 적출을 한 흰쥐의 경골(tibia)의 골 재생과정에서 방사선 보호작용을 할 가능성을 제시하였다.

(중심단어: 방사선치료, 골다공증, 셀레늄, 난소적출술)

REFERENCES

- Anbinder AL, Prado Fde A, Prado Mde A, Balducci I and Rocha RF. 2007. The influence of ovariectomy, simvastatin and sodium alendronate on alveolar bone in rats. *Braz. Oral Res.* 21:247-252.
- Büntzel J, Micke O, Kisters K, Bruns F, Glatzel M and Schönekaes K. 2010. Selenium substitution during radiotherapy of solid tumours laboratory data from two observation studies in gynaecological and head and neck cancer patients. *Anti-cancer Res.* 30:1783-1786.
- Chicarelli M, Ramos FM, Manzi FR, Novaes PD, Bóscolo FN and Almeida SM. 2007. Effect of gamma rays on the bone repair process in rats with estrogen deficiency. *Braz. Oral Res.* 21:75-80.
- Comelekoglu U, Bagis S, Yalin S, Ogenler O, Yildiz A and Sahin NO. 2007. Biomechanical evaluation in osteoporosis: Ovariectomized rat model. *Clin. Rheumatol.* 26:380-384.
- Dudziak ME, Saadeh PB, Mehrara BJ, Steinbrech DS, Greenwald JA and Gittes GK. 2000. The effects of ionizing radiation on osteoblast-like cells *in vitro*. *Plast Reconstr. Surg.* 106:1049-1061.
- Eastell R. 2003. Management of osteoporosis due to ovarian failure. *Med. Pediatr. Oncol.* 41:222-227.
- Gal TJ, Munoz-Antonia T, Muro-Cacho CA and Klotch DW. 2000. Radiation effects on osteoblasts *in vitro*: A potential role in osteoradionecrosis. *Arch. Otolaryngol Head Neck Surg.* 126:1124-1128.
- Giardino R, Fini M, Giavaresi G, Mongiorgi R, Gnudi S and Zati A. 1993. Experimental surgical model in osteoporosis study. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 69:453-460.

- Iwaniec UT, Yuan D, Power RA and Wronski TJ. 2006. Strain-dependent variations in the response of cancerous bone to ovariectomy in mice. *J. Bone Miner Res.* 21:1068-1074.
- Jakob F, Becker K, Paar E, Ebert-Duemig R and Schütze N. 2002. Expression and regulation of thioredoxin reductases and other selenoproteins in bone. *Methods Enzymol.* 347: 168-179.
- MacFarquhar JK, Broussard DL, Melstrom P, Hutchinson R, Wolkin A and Martin C. 2010. Acute selenium toxicity associated with a dietary supplement. *Arch. Intern. Med.* 170: 256-261.
- Meyer Jr RA, Tsahakis PJ, Martin DF, Banks DM, Harrow ME and Kiebzak GM. 2001. Age and ovariectomy impair both the normalization of mechanical properties and the accretion of mineral by the fracture callus in rats. *J. Orthop. Res.* 19:428-435.
- Molnár J, MacPherson A, Barclay I and Molnár P. 1995. Selenium content of convenience and fast foods in Ayrshire, Scotland. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 46:343-352.
- Mutlu-Turkoglu U, Erbil Y, Öztezcan S, Olgac V, Toser G and Uysal M. 2000. The effect of selenium and/or vitamin E treatments on radiation-induced intestinal injury in rats. *Life Sci.* 66:1905-1913.
- Rafferty TS, McKenzie RC, Hunter JAA, Howie AF, Arthur JR and Nicol F. 1998. Differential expression of selenoproteins by human skin cells and protection by selenium from UVB-radiation-induced cell death. *Biochem. J.* 332:231-236.
- Raines AM and Sunde RA. 2011. Selenium toxicity but not deficient or super-nutritional selenium status vastly alters the transcriptome in rodents. *BMC Genomics.* 12:26.
- Rayman MP, Infante HG and Sargent M. 2008. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *Br. J. Nutr.* 100:238-253.
- Rocha AS, Ramos-Perez FM, Bóscolo FN, Manzi FR, Chicarello M and Almeida SM. 2009. Effect of sodium selenite on bone repair in tibiae of irradiated rats. *Braz. Dent. J.* 20:186-190.
- Sakurai T, Sawada Y, Yoshimoto M, Kawai M and Miyakoshi J. 2007. Radiation-induced reduction of osteoblast differentiation in C2C12 cells. *J. Radiat. Res.* 48:515-521.
- Sandukji A, Al-Sawaf H, Mohamadin A, Alrashidi Y and She-weita S. 2011. Oxidative stress and bone markers in plasma of patients with long-bone fixative surgery: Role of antioxidants. *Hum. Exp. Toxicol.* 30:435-442.
- Schwarz K and Foltz CM. 1999. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *Nutrition.* 15:255.
- Sieber F, Muir SA, Cohen EP, North PE, Fish BL and Irving AA. 2009. High-dose selenium for the mitigation of radiation injury: A pilot study in a rat model. *Radiat. Res.* 171: 368-373.
- Stewart MS, Spallholz JE, Neldner KH and Pence BC. 1999. Selenium compounds have disparate abilities to impose oxidative stress and induce apoptosis. *Free Radic. Biol. Med.* 26:42-48.
- Szymczyk KH, Shapiro IM and Adams CS. 2004. Ionizing radiation sensitizes bone cells to apoptosis. *Bone.* 34:148-156.
- Tuji FM, Pontual ML, Barros SP, Almeida SM and Bóscolo FN. 2010. Ultrastructural assessment of the radioprotective effects of sodium selenite on parotid glands in rats. *J. Oral Sci.* 52:369-375.
- Williams HJ and Davies AM. 2006. The effect of X-rays on bone: a pictorial review. *Eur. Radiol.* 16:619-633.
- Wu J, Lyons GH, Graham RD and Fenech MF. 2009. The effect of selenium as selenomethionine, on genome stability and cytotoxicity in human lymphocytes measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Mutagenesis.* 24:225-232.

Received January 30, 2015, Revised June 24, 2015, Accepted September 22, 2015