

선형가속기를 이용한 방사선조사에서 생쥐조직의 생화학적 변화

Biochemical Changes in the Tissue of Mice Irradiated with LINAC

최성관

광주보건대학 방사선과

Seong-Kwan Choi(skchoi@ghu.ac.kr)

요약

본 연구에서는 선형가속기(LINAC)로 3 Gy의 방사선이 1회 전신조사된 마우스의 소장과 간 조직을 통해서 방사선피폭 후 세포를 보호하기 위해 생성되는 caspase (caspase 3 & caspase 9)와 NO (nitric oxide) 그리고 사이토카인(cytokine) 중 IL-6과 TNF- α 등에 대해 알아보았고, 그 결과는 다음과 같다.

첫째, caspase 3 & caspase 9는 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보였다(P<0.001).

둘째, NO (nitric oxide)는 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보였다(P<0.001).

셋째, Cytokine 중 하나인 IL-6과 TNF- α 는 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보였다(P<0.001).

■ 중심어 : | 카스파제 | 산화질소 | IL-6 | TNF- α | 사이토카인 |

Abstract

In this study, a linear accelerator (LINAC) through 3 Gy of radiation per body irradiated mice of the small intestine and the liver to produce in order to protect the cells after radiation exposure that caspase (caspase 3 & caspase 9) and NO (nitric oxide), and looked like to know cytokine of IL-6 and TNF- α , the result is as follows.

First, caspase 3 & caspase 9 showed a noticeable increase in the radiation group than in the control group both small intestine and liver tissues (P <0.001).

Second, NO are both intestine and liver tissue showed a marked increase in the radiation group than in the control group (P <0.001).

Third, one of Cytokine IL-6 and TNF- α showed a significant increase in the irradiated group than the control group both small intestine and liver tissues (P <0.001).

■ keyword : | Caspase | NO | IL-6 | TNF- α | Cytokine |

1. 서 론

2011년 3월 11일 일본 후쿠시마 원자력발전소 폭발사

건을 계기로 최근 우리 사회는 의료나 산업에서의 방사선 사용에 대한 관심이 극도로 높아지고 있는 가운데, 방사선의 사용으로 인한 편익은 인정하면서도 그로인

* 이 논문은 2014년도 광주보건대학교 교내연구비의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 3014026)

접수일자 : 2015년 10월 26일

심사완료일 : 2015년 11월 17일

수정일자 : 2015년 11월 17일

교신저자 : 최성관, e-mail : skchoi@ghu.ac.kr

한 위험성에 관한 부정적인 인식은 매우 높아지고 있다 [1]. 특히 방사선의 의료적 이용은 방사선진단분야뿐만 아니라 방사선암치료분야로까지 널리 보편화되고 있어서 방사선에 대한 전문적 지식이 없는 국민들을 더욱 불안하게 하고 있고, 따라서 일정수준 이상의 방사선이 인체에 조사될 경우 어떠한 조직학적 변화가 나타날 수 있는지에 대한 다양한 연구가 필요한 실정이다.

방사선이 우리 일상에서 가장 많이 이용되고 있는 곳 중의 하나는 바로 의료분야로서 X-ray를 통해 인체를 진단하거나 γ -ray를 통해 암을 치료하는 등의 형태로 사용되어진다. 이때 사용되는 방사선은 대부분 전리방사선으로서 인체에 과다하게 조사되면 전리나 여기와 같은 물리적 작용을 일으키게 되고, 결국 인체세포의 결정적 표적인 DNA에 직·간접적으로 영향을 미쳐서 일정한 방사선장해를 일으키게 된다[2]. 특히 비교적 방사선량이 높은 방사선암치료의 경우 암 조직을 향해 방사선을 조사할 때 암 조직뿐만 아니라 그 주변 조직에 까지 방사선피폭을 일으킨다. 예를 들어, 담도암을 방사선으로 치료할 경우 그 주변장기인 콩팥이나 간, 췌장, 소장 등의 인접 정상조직까지 상당한 양의 방사선피폭이 수반된다[3]. 대개 한꺼번에 수 Gy 이상의 많은 방사선량이 전신에 노출되면 선량이 많아짐에 따라 골수장해증후군, 위장장해증후군, 중추신경장해증후군 등의 순서로 방사선 급성장해가 나타나고, 반면에 적은 방사선량이 수개월에서 수년 이상 반복적으로 노출되면 방사선백내장이나 방사선발암과 같은 방사선 만성장해가 나타난다[4]. 그동안 방사선이 조사된 세포 및 분자의 생물화학적 변화는 0.5 Gy 이상의 선량에서 자주 보고되어 왔으나, 그와는 반대로 최근에는 0.2 Gy 이하의 낮은 선량범위에서도 변화가 관찰된다는 연구도 보고되었다[5].

한편, 인체조직은 방사선이 조사되었을 때 방사선손상으로부터 세포를 보호하기 위한 여러 가지 생화학적 변화가 나타나는데, 그중에 대표적인 몇 가지는 caspase 생성이나 사이토카인(cytokine) 생성, 그리고 산화질소(nitric oxide) 생성 등을 들 수 있다. 이러한 생성물들은 방사선조사 전이나 후에 인삼 사포닌이나 녹차 카테킨(폴리페놀) 추출물 등과 같은 항산화물질로

처리(treatment)할 경우 그 생성을 더욱 증강시킨다. Caspase는 방사선조사 등의 영향으로 조직의 세포사(apoptosis)가 진행될 때 살아있는 세포를 보호해주고 DNA를 절단하는 물질인 CAD (caspase-activated deoxyribonuclease)를 억제시켜주는 효소이고, 산화질소(nitric oxide)는 혈관 내벽의 상피세포에서 생성되어 감염에 대항하는 신경전달물질 중의 하나이며, 사이토카인(cytokine)은 IL (interleukin)이나 TNF- α (tumor necrosis factor- α) 등처럼 다양한 세포 사이에서 면역응답 상호작용에 관여하는 생물활성인자의 총칭을 말한다. 이러한 물질들은 방사선암치료 시와 같은 방사선 인체피폭 시 신체세포에서 생성되어 방사선피폭으로 인해 진행되는 세포피사나 염증반응 등을 억제시키는 역할을 수행한다.

본 연구는 선형가속기(LINAC)로 3 Gy의 방사선이 1회 전신조사된 마우스의 조직을 통해 방사선피폭에 대항하여 유도되는 생화학적 변화가 무엇인지 그 몇 가지를 알아봄으로써, 일정수준 이상의 방사선이 인체조직에 조사되었을 때 방사선 저항에 작용하는 신체 작용기전에 관한 소정의 기초정보를 제공하는데 그 목적이 있다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1.1 실험동물

실험동물은 중앙실험동물(주)로부터 구입한 체중 25~35 g의 C57BL/6 생쥐를 사용하였고, 정상대조군과 방사선조사군에 각각 30마리씩 총 60마리를 적용하였다. 생쥐는 방사선조사 전 21일 전부터 방사선조사 후 3일까지 온도 23°C, 습도 45%의 폴리카보네이트 사육장에서 길렀으며, 사료와 음수는 자유롭게 투여시켰다.

1.2 방사선조사장치

방사선조사장치로 10 MeV급 선형가속기(LINAC, Clinac 21Ex, Varian)를 사용하였다.

2. 실험그룹 분류

실험그룹은 정상대조군과 방사선조사군 등 총 2개 그룹으로 나누었다.

3. 실험방법

3.1 방사선조사

방사선조사군 마우스 전체에게 방사선조사 후 가장 활발한 생화학적 변화가 나타나는 선량인 3 Gy의 방사선을 조사하였고, 300 cGy/min 선량률로 1회 전신조사를 하였다.

3.2 실험조직 채취

실험동물을 방사선조사 72시간 후 경추탈구법으로 희생시킨 뒤 방사선감수성이 높고 생명유지에 필수적 조직인 소장(small intestine)과 간(liver)을 채취하여 실험조직으로 사용하였다.

3.3 실험자료 측정

채취한 소장 및 간 조직을 lysis buffer를 이용하여 완전히 용해한 후 반응시약으로 처리한 다음 전용 kit를 통해 caspase 3과 caspase 9, nitric oxide, cytokine (TNF- α , IL-6)를 측정하였다.

4. 통계처리

각 실험결과는 평균, 표준편차(Mean \pm S.D.)로 표시하였고, 각 실험그룹간 평균값의 차이에 대한 유의성 검정은 SPSS 18.1 통계프로그램을 통한 대응표본 t-test를 실시하였으며, 통계학적 유의성을 검증하기 위한 유의수준은 0.05로 하였다.

III. 연구결과

1. 세포활성능 측정

1.1 Caspase-3

마우스를 선형가속기로 3 Gy의 방사선을 조사한 후 소장(small intestine) 및 간(liver) 조직에 대한

caspase-3을 측정하였다. 405 nm에서의 O.D(광학밀도, optical density) 평균값은 소장 조직의 경우 정상대조군이 0.020인데 반해 방사선조사군이 0.716으로 나타났고, 간 조직의 경우 정상대조군이 0.203인데 반해 방사선조사군이 0.674로 나타났다. 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보임으로써 두 그룹 간 평균값의 매우 유의한 차이를 보였다(P<0.001)[표 1][그림 1].

표 1. 소장과 간 조직에서의 Caspase-3

조직	그룹	Caspase-3 (mean \pm SD)	t값
소장 (intestine)	정상대조군	0.020 \pm 0.005	-147.4***
	방사선조사군	0.716 \pm 0.025	
간 (liver)	정상대조군	0.203 \pm 0.031	-105.3***
	방사선조사군	0.674 \pm 0.027	

***p(0.001)

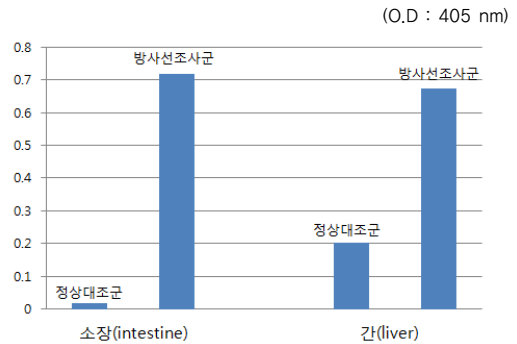


그림 1. 소장과 간 조직에서의 Caspase-3

1.2 Caspase-9

마우스를 선형가속기로 3 Gy의 방사선을 조사한 후 소장(small intestine) 및 간(liver) 조직에 대한 caspase-9를 측정하였다. 405 nm에서의 O.D(광학밀도, optical density) 평균값은 소장 조직의 경우 정상대조군이 0.088인데 반해 방사선조사군이 0.720으로 나타났고, 간 조직의 경우 정상대조군이 0.145인데 반해 방사선조사군이 0.803으로 나타나다. 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보임으로써 두 그룹 간 평균값의 매우 유의한 차이를 보였다(P<0.001)[표 2][그림 2].

표 2. 소장과 간 조직에서의 Caspase-9

(O.D. : 405 nm)

조직	그룹	Caspase-9 (mean±SD)	t값
소장 (intestine)	정상대조군	0.088±0.003	-193.8***
	방사선조사군	0.720±0.016	
간 (liver)	정상대조군	0.145±0.024	-60.0***
	방사선조사군	0.803±0.055	

***p<0.001

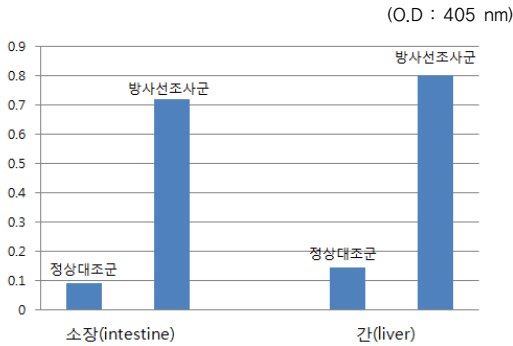


그림 2. 소장과 간 조직에서의 Caspase-9

2. 염증반응을 보기 위한 NO (nitric oxide) 측정

마우스를 선형가속기로 3 Gy의 방사선을 조사한 후 소장(small intestine) 및 간(liver) 조직에 대한 NO를 측정하였다. 그 결과 소장 조직의 경우 정상대조군이 1.688인데 반해 방사선조사군이 6.068로 나타났고, 간 조직의 경우 정상대조군이 2.205인데 반해 방사선조사군이 3.100으로 나타나다. 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보임으로써 두 그룹 간 평균값의 매우 유의한 차이를 보였다 (P<0.001)[표 3][그림 3].

표 3. 소장과 간 조직에서의 NO (nitric oxide)

(unit : nM/μg protein)

조직	그룹	nitric oxide (mean±SD)	t값
소장 (intestine)	정상대조군	1.688±0.039	-85.4***
	방사선조사군	6.068±0.271	
간 (liver)	정상대조군	2.205±0.152	-23.2***
	방사선조사군	3.100±0.137	

***p<0.001

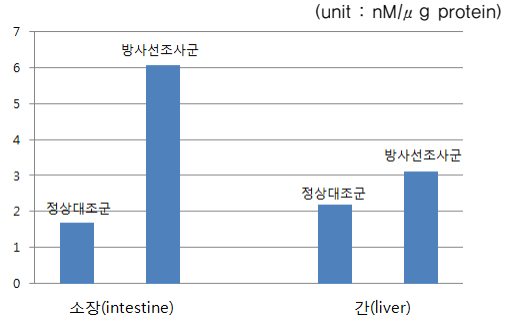


그림 3. 소장과 간 조직에서의 NO (nitric oxide)

3. Cytokine 측정

3.1 IL-6

마우스를 선형가속기로 3 Gy의 방사선을 조사한 후 소장(small intestine) 및 간(liver) 조직에 대한 IL-6을 측정하였다. 그 결과 소장 조직의 경우 정상대조군이 0.005인데 반해 방사선조사군이 0.032로 나타났고, 간 조직의 경우 정상대조군이 0.008인데 반해 방사선조사군이 0.017로 나타나다. 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보임으로써 두 그룹 간 평균값의 매우 유의한 차이를 보였다 (P<0.001)[표 4][그림 4].

표 4. 소장과 간 조직에서의 IL-6

(unit : pg/mg)

조직	그룹	IL-6 (mean±SD)	t값
소장 (intestine)	정상대조군	0.005±0.002	-21.4***
	방사선조사군	0.032±0.007	
간 (liver)	정상대조군	0.008±0.001	-21.8***
	방사선조사군	0.017±0.002	

***p<0.001

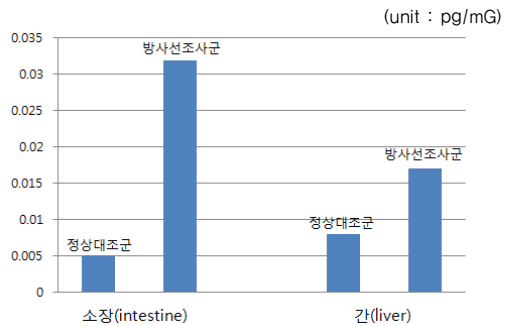


그림 4. 소장과 간 조직에서의 IL-6

3.2 TNF- α

마우스를 선형가속기로 3 Gy의 방사선을 조사한 후 소장(small intestine) 및 간(liver) 조직에 대한 TNF- α 를 측정하였다. 그 결과 소장 조직의 경우 정상대조군이 0.045인데 반해 방사선조사군이 0.456으로 나타났고, 간 조직의 경우 정상대조군이 0.015인데 반해 방사선조사군이 0.328로 나타나다. 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보임으로써 두 그룹 간 평균값의 매우 유의한 차이를 보였다 ($P < 0.001$) [표 5][그림 5].

표 5. 소장과 간 조직에서의 TNF- α

(unit : pg/mG)			
조직	그룹	TNF- α (mean \pm SD)	t값
소장 (intestine)	정상대조군	0.045 \pm 0.011	-44.7***
	방사선조사군	0.456 \pm 0.047	
간 (liver)	정상대조군	0.015 \pm 0.007	-21.8***
	방사선조사군	0.328 \pm 0.026	

***p(0.001)

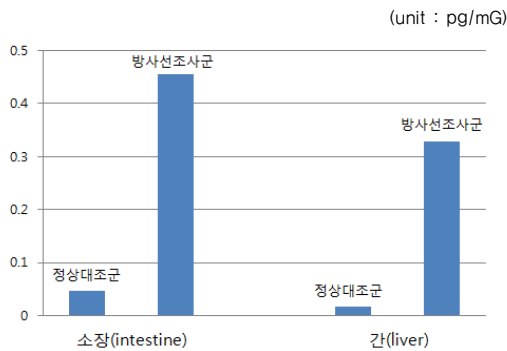


그림 5. 소장과 간 조직에서의 TNF- α

IV. 고 찰

지금까지 선형가속기(LINAC)로 3 Gy의 방사선이 1회 전신조사된 마우스의 소장과 간 조직을 통해서 방사선피폭 후 세포를 보호하기 위해 생성되는 caspase (caspase 3 & caspase 9)와 NO (nitric oxide) 그리고 사이토카인(cytokine) 중 IL-6과 TNF- α 등에 대해 알아보았다.

그동안 본 연구와 관련한 연구가 활발하게 진행되어 왔는데, 타 연구와 본 연구와의 결과를 비교 고찰하여 보면 다음과 같다.

방사선 조사에 의해 세포사(apoptosis)로 진행되는 세포신호경로 중 caspase와 관련하여 K. Myung-Sook (2002)는 방사선 조사 후 생성이 증가되어 핵 내의 세포자멸 억제단백질을 분해하고 제거시킴으로써 손상이 심한 세포의 자멸사를 유도하는 역할을 수행한다고 보고했다[6]. 본 연구에서 caspase 3 생성은 정상대조군에 비해 방사선조사군의 소장 조직에서 35.8배 그리고 간 조직에서 3.3배 증가되었고, caspase 9 생성은 정상대조군에 비해 방사선조사군의 소장 조직에서 8.2배 그리고 간 조직에서 5.5배 증가되었다($P < 0.001$).

혈관 내벽의 상피세포에서 생성되어 감염에 대항하는 신경전달물질 중의 하나인 NO와 관련하여 G. Sethi 등(2004)은 자외선 B 피폭을 받은 마우스의 in vitro 실험을 통해 복막 대식세포의 활성화를 규명하였는데, 이 연구에서는 자외선을 피폭 받은 마우스 조직에서 NO의 생성이 약 5배 증가되어 나타났고, UVB 조사 24시간만에 최고점에 이른다고 보고했다[7]. 본 연구에서 NO 생성은 정상대조군에 비해 방사선조사군의 소장 조직에서 3.6배 그리고 간 조직에서 1.4배 증가되었다 ($P < 0.001$).

Cytokine의 하나로써 방사선 피폭 후 다양한 세포 사이에서 면역응답 상호작용에 관여하는 IL이나 TNF- α 와 관련하여 M. Akmansu 등(2005)은 두경부암으로 방사선치료를 받은 34명의 환자 혈청을 가지고 TNF- α 와 IL-6의 수치를 조사하였는데 방사선치료를 위해 방사선 조사를 받은 환자에서 TNF- α 는 2.9배 그리고 IL-6은 2.0배 급증하였다고 보고했다[8]. S. Kyrkanides 등(1999)은 방사선이 조사된 마우스의 뇌 조직을 가지고 시행한 in vitro 실험에서 전리방사선은 TNF- α 를 3.5배 그리고 IL-1 β 를 4배 증가시킨다고 보고했다[9]. 본 연구에서 cytokine 중 하나인 IL-6 생성은 정상대조군에 비해 방사선조사군의 소장 조직에서 6.4배 그리고 간 조직에서 2.1배 증가되었고, TNF- α 생성은 정상대조군에 비해 방사선조사군의 소장 조직에서 10.1배 그리고 간 조직에서 21.9배 증가되었다($P < 0.001$).

V. 결 론

인간이나 동물의 생체조직에 일정량 이상의 전리방사선이 조사되면 물리적 내지는 생화학적 변화를 거쳐서 급성 또는 만성 방사선장해를 일으킬 수 있다. 하지만 본 연구에서처럼, 그러한 과정이 진행되는 동안 방사선피폭에 대하여 유도되는 생화학적 변화도 동시에 나타난다.

본 연구에서는 선형가속기(LINAC)로 3 Gy의 방사선이 1회 전신조사된 마우스의 소장과 간 조직을 통해서 방사선피폭 후 세포를 보호하기 위해 생성되는 caspase (caspase 3 & caspase 9)와 NO (nitric oxide) 그리고 사이토카인(cytokine) 중 IL-6와 TNF- α 등에 대해 알아보았고, 그 결과는 다음과 같다.

첫째, caspase 3 & caspase 9는 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보였다(P<0.001).

둘째, NO는 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보였다(P<0.001).

셋째, cytokine 중 하나인 IL-6와 TNF- α 는 소장과 간 조직 모두 정상대조군보다 방사선조사군에서 두드러진 증가를 보였다(P<0.001).

induced by low-versus high-dose radiation," International Congress Series 1225, pp.179-188, 2002.

[6] K. Myung-Sook, "Signaling and functional of caspase and c-Jun N-terminal kinase in cisplatin-induced apoptosis," Korean Society for Molecular and Cellular Biology, Vol.13, No.2, pp.194-201, 2002.

[7] G. Sethi and A. Sodhi, "In vitro activation of murine peritoneal macrophages by ultraviolet B radiation," Molecular immunology, Vol.40, pp.1315-1323, 2004.

[8] M. Akmansu, D. Unsal, and H. Bora, "Influence of locoregional radiation treatment on tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in the serum of patient with head and neck cancer," Cytokine, Vol.31, pp.41-45, 2005.

[9] S. Kyrkanides, J. A. Olschowka, and J. P. Williams, "TNF- α and IL-1 β mediate intercellular adhesion molecule-1 induction via microglia-astrocyte interaction in CNS radiation injury," Journal of Neuroimmunology, Vol.95, pp.95-106, 1999.

참 고 문 헌

[1] 김창수, 김동현, 김정훈, "후쿠시마 원전 사고 후 방사선 및 원전에 대한 인식 분석," 한국콘텐츠학회논문지, Vol.13, No.9, p.286, 2013.

[2] 최종학, 임한영, 이준일, 강정호, 홍시영, *의료방사선생물학*, 신광출판사, p.27, 2012.

[3] 박주경, 이승훈, 차석용, 이선영, "간의 담도암 고선량을 관내근접방사선치료 시 몬테카를로 시뮬레이션을 통한 주변장기의 선량평가 연구," 한국콘텐츠학회논문지, Vol.14, No.2, p.467, 2014.

[4] 박인국, 고인호, 김동윤, 박영순, 유병규, *방사선생물학*, 청구문화사, pp.129-144, 2001.

[5] Shu-Zheng Liu, "Cellular and molecular changes

저 자 소 개

최 성 관(Seong-Kwan Choi)

정회원



- 2007년 2월 : 조선대학교 대학원 보건학과(보건학박사)
- 2008년 3월 ~ 현재 : 광주보건대학교 방사선과 교수

<관심분야> : 방사선영상학, 방사선보건학