

Study on the Radiation Dose about Skin Thickness of Rat (For Radiation Damage Tissue Engineering)

Hongmoon Jung,¹ Doyeon Won,¹ Hyeongyun Kim,² Jaeun Jung,¹ Hyeun-woo Choi^{3,*}

¹Department of Radiological Science, Daegu Health College

²Department of Radiological Science, Far East University

³Kyungpook National University Hospital Biomedical engineering

Received: June 15, 2016. Revised: October 11, 2016. Accepted: October 30, 2016

ABSTRACT

A rat is the most common experimental animal used for the realization of the radiation injury model. The certain thickness of rat skin was prepared by peeling off a rat skin. Radiation level was measured by using this rat skin. Also, The schematic of the formula was made that can predict the radiation absorbed dose (RAD) as a function of the thickness of the rat skin. Consequently, we will provide the RAD information in the realization of in-vitro experimental model regarding the rat's skin thickness by applying the formulas. Moreover, the results from this study can be effectively used for the in-vitro experiment of the rat subcutaneous tissue which was exposed to radiation.

Keyword: rat radiation dose, rat skin radiation, rat skin radiation experiment

I. INTRODUCTION

피부조직은 우리 몸을 구성하는 조직 중에서 가장 큰 영역과 넓은 비율을 차지하고 있다. 성인은 피부면적은 대략 1.5m² 구성되어 있다.^[1] 피부의 기능은 체외 부위로 부터의 병원, 병소, 바이러스 등이 장기내부로 침입하는 것을 막아주는 역할을 하고 있다. 피부의 구조는 표피,진피,피부밑조직의(피하조직) 3층으로 구성되어 있다. 더 나아가 피부는 각종 감각조직의 세포들과 기관을 포함하고 있어서 감각기에 중요한 역할을 하며 체온조절과 배설, 호흡, 생체방어의 핵심적인 인체의 장기로 중요한 역할을 하고 있다.^[2,3] 인체의 관한 방사선의 피폭에 있어서 피부선량 한도는 일반인인 경우 연간 50mSv/year 이며 작업피폭에 관한 선량한도는 연간 500mSv/year로 알려져 있다. 방사선을 6Gy 정도를 인체에 조사하게 되면 약 일주일 후에 발적이 발생이 되고 3주와 6주 사이에 색소 침착과 피부홍반을 수반하게 된다. 또한 방사선 조사로 인한 장해를 유발

하는 피부염은 1도 에서부터 4도로 나타나게 된다. 1-3 Gy는 3주간의 잠복기를 거쳐 가벼운 색소침착을 유발하며(1도), 5-12Gy의 피폭은 약2주가 경과되면 홍반 및 탈모를 수반한다.(2도) 또한 12-18Gy의 피폭은 1주간의 잠복기를 거친 후 수포나 궤양이 발생되고 20Gy이상 피폭이 되면 가벼운 궤양이 아닌 피부피하지역 까지도 심각한 궤사를 초래하는 것으로 알려져 있다. 이렇듯 방사선 피폭에 의한 피부의 장해로 인한 손상 때문에 피부에 관한 방사선장해 연구가 필수적으로 대두되어 진다. 사람에게 직접적으로 연구할 수 없는 이유로 인해 설치류 등에 피부를 이용한 방사선 장해 연구가 끊임없이 연구되어지고 있다. 그중에서도 방사선을 사용한 장해모델구현에 있어서 다양한 연구방법이 제시되는데 대표적인 설치류인 쥐(rat)는 방사선 장해모델 연구에 있어서 자주 사용되는 동물 중에 하나이다. 또한 조직공학적으로도 많이 사용되고 있다. 특히 쥐의 두개 골이라 불리는 칼바리아결손 모델은 대표적인 실험방법 중에 하나이다.^[4,5,6] 또한 쥐에 등에 피하 조직인 subcutaneous 에 각종 생체조직을 삽입하여 다양한 실험

*Corresponding Author: choi hyeun woo

E-mail: chwoo717@hanmail.net

Tel: +82-53-200-5623

을 시행한다.^[7,8] 더 나아가서 최근에는 방사선 장애를 유발한 후에 방사선 장애에 의한 조직의 괴사인 극복 연구인 방사성 조직괴사(osteoradio necrosis) 연구에 사용되고 있다.^[9,10] 이러한 방사선 장애를 연구하는 조직공학 실험연구 분야에서는 방사선조사실험은 쥐의 피부를 절개한 후 방사선 조사를 시행하게 된다. 하지만 결정적으로는 방사선 조사를 시행하는 실험에서 쥐의 피하에 얼마정도의 방사선량이 조사받는지와 또한 방사선량과 쥐의 피하밑에 삽입할 수 있는 각종 재생용지지체를 위한 실험에서는 현재까지는 수치화와 수식화를 간단하게 표시한 것은 보고된 바 없다. 따라서 이번 연구에서는 쥐의 피부와 피부 피하의 조사되는 방사선량의 예측치를 간단한 수식으로 알아보기 위해 연구를 시행하고자 한다.

II. MATERIAL AND METHODS

1. 엑스레이 장비 및 선량측정기

방사선량의 측정은 선량측정(radical corporation : model 2026)을 사용하여 측정하였고 엑스레이 장비는 일반촬영 장비인 도시바 (model: kox-15R)을 사용하여 방사선을 조사하였다. 엑스레이 조사조건은 50Kvp 4mAs 거리 90cm 로 정하여 실험을 하였다.

2. 쥐의 피부획득 및 방사선조사 실험방법

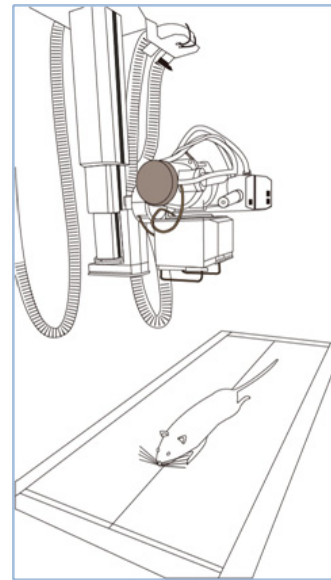
이산화탄소 (CO₂) 가스로 이미 안락사한 약 5마리의 16주령의 쥐의 피부를 벗긴 후에 피부의 두께를 측정 한 후에 순차적으로 쌓아가며 방사선 측정하였다. 방사선 발생장치 장비는 일반촬영 장비인 도시바 진단용 방사선 발생장치(model:kox-15R)을 사용하여 실험을 하였고 엑스레이 조사조건은 50Kvp 4mAs 거리 90cm 로 정하여 순차적으로 피부의 두께를 측정하며 방사선 조사를 한 후 선량계의 측정치의 수치를 읽어가며 실험을 시행하였다. 우선 쥐의 피부만 획득한 후에 방사선 조사를 시행하여 첫 번째 방사선 조사값을 측정하였다. 이후에 순차적으로 쥐의 피부를 벗긴 후 두께를 측정해가며 즉, 피부를 쌓아가면서 방사선측정치의 값을 읽어가며 수치화 하였다. Fig2에서는 쥐의 피부를 벗기는 실험장면과 피부를 쌓아가면서 측정한 실험방법을 모식도화 하였다.

3. 쥐피부 두께에 따른 통계분석

쥐 피부의 두께를 측정한 후 그에 따른 조사선량을 흡수선량으로 수치화 하여 통계화 하였다. 10회시상의 재현성을 통한 수치를 구현하여 오차를 최소화 하고자 하였다.

4. 통계적 분석

모든 통계적 수치의 차이는 엑셀을 통하여 T-student (t-test)를 통하여 검증되었으며 P값은 0.05이하의 범위에 있을 때 유의한 것으로 간주하였다.



Schema of rat experiment
Fig. 1. Experimental method using rat skin.

III. RESULT

일반적인 쥐를 사용한 조직공학적 실험은 진단용 일반 촬영장비를 사용하여 Fig.1(A) 같은 방법으로 사용되기도 한다. 기본적으로는 방사선 치료 장비인 선형 가속기를 사용하여 조사하는 방법이 더욱 좋은 방법이지만 심부선량이 그리 깊지 않은 쥐의 피부의 경우에는 그림에서 제시한 방법으로도 사용되기도 한다. 이번 실험에서도 마우스에 피부를 벗긴 후 쥐의 피부 밑에 선량계를 넣고 측정하는 방법을 택하였다.

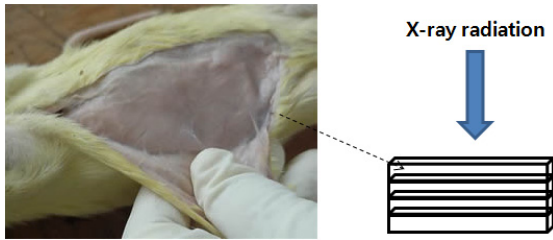


Fig. 2. Rat skin thickness about experiment.

쥐의 껍질을 벗긴 후 벗긴 쥐의 피부의 두께를 측정 한 후에 충분히 쌓아올려 방사선 조사를 가한 후 선량 계에서 읽히는 수치를 측정하였다. Fig.2는 이미 이산화탄소(CO₂) 안락사 시킨 쥐의 피부를 절개한 후 4 각형의 모양을 만든 후에 쌓아올린 실험의 방법을 도식화 하였다.

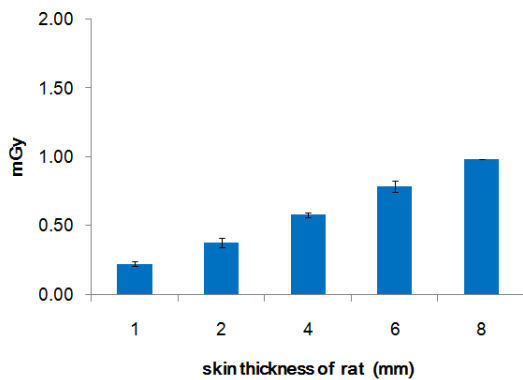


Fig. 3. Dose changes in the thickness rat skin.

쥐의 피부두께에 따른 조사선량(mR/hour)을 측정한 후에 선량을 흡수선량의 (mGy/hour) 단위로 환산하여 수치화 하였다. 쥐의 피부의 두께가 두꺼워지면 두꺼워 질수록 피부에는 더 많은 흡수선량이 증가함을 보여준다. 쥐의 피부는 1-2mm 사이지만 실험결과에 따르면 실험조건인 50Kvp 4mAs 거리 90cm 로 조사하게 되면 쥐의 피부가 8mm 정도인 곳에서는 약 1mGy/hour 의 흡수선량 값을 유추해 낼 수 있게 된다.

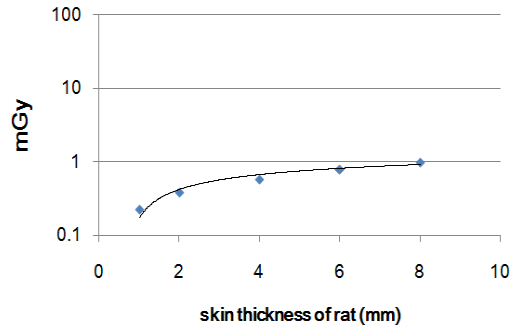


Fig. 4. Dose formulation of change in the thickness rat skin.

fig.4 에서는 쥐 피부의 두께에 따른 공식을 유도하기 위해 수치화한 그래프 이다. 이 그래프를 사용하여 다음과 같은 공식을 유도 할 수 있게 된다.

$$y = 0.352 \ln(x) + 0.172 \quad (1)$$

$$x = e^{\frac{y}{0.352}} * e^{-0.488} \quad (2)$$

흡수선량인 mGy 값을 수치화 및 통계화하여 수식 Equation. 1,2를 유도하였다. 유도된 식을 사용하면 쥐의 피부 두께를 알고 있으면 피부의 흡수선량인 mGy/h의 값을 유추해 낼 수 있으며 mGy/h을 알면 쥐의 피부의 두께를 어느 정도 유추해 낼 수 있게 된다.

IV. DISCUSSION & CONCLUSION

쥐를 사용하는 조직공학의 연구는 현재 많은 연구자들에게 사용되어지고 있다. 특히 쥐의 칼바리아를 결손을 구현한 후에 다양한 지지체를 이식하는 것이 대부분 이지만 아직까지는 방사선 조사에 따른 쥐의 피부 조직피하의 지지체의가 받을 수 있는 선량연구가 수반되지 않았다. 이번 연구에서는 설치류 중에 한 종류인 쥐를 사용하여 방사선의 흡수선량이 쥐의 피부에 두께에 어느 정도 측정 되는지에 관하여 실험하였다. 쥐 피부의 두께가 두꺼워 지면 두꺼워 질수록 흡수선량이 증가하는 결과를 얻었으며 이를 통하여 흡수선량을 알면 마우스의 두께를 알 수 있는 대략적인 Equation. 1,2를 유도 하였으며 이 공식을 사용하면 쥐 피부의 흡수선량에 따른 쥐 피부에 두께까지 역으로 유추해 낼 수 있다.이러한 방사선 조사에 관한 쥐의 선량연구에 필요

성을 말하자면 방사선 조사 후 발생하는 조직의 괴사 (Osteo-radio-necrosis)^[9,10,11]의 극복을 위한 연구의 근간이 되는 연구이기 때문이다. 다양한 부작용을 수반하는 방사선 치료는 방사선 조사 후에 전리 방사선의 부작용으로 인하여 방사선 조사를 받은 환자에게 뼈의 괴사 및 생체 조직의 파괴가 발생이 되는데 피부조직의 괴사나 뼈의 괴사 등이 수반 되는 것이 대부분이다. 이러한 부작용의 원인은 조직의 재생에 도움을 주는 줄기세포(stem cell) 계열과, 조혈모세포, 혈관형성세포등이 방사선의 장해에 의해 우선적으로 파괴되기 때문이다. 이러한 부작용을 극복하기 위하여 방사선 조사 후에 발생하는 방사선 장해를 받은 조직부위의 원활한 조직 재생을 돕기 위하여 다양한 약물과 지지체의 개발이 요구되어지고 있다.

결론적으로 이번실험에서는 쥐 피부를 벗긴 후 일정한 두께로 만든 후에 피부 두께에 따른 방사선량을 측정하였으며 또한 쥐의 피부 두께에 따른 방사선 흡수선량을 유추해 낼 수 있는 수식을 도식화 하였다. 이러한 수식을 적용하여 쥐 피부두께에 관한 체내(in-vitro) 실험모델 구현 시에 쥐피부 피하에 삽입할 수 있는 지지체상에 적용되는 방사선 흡수선량의 정보를 제공하고자 한다. 따라서 이번연구의 결과를 기반으로 쥐의 피하 속에 다양한 종류의 지지체를 삽입하는 방사선 장해에 관한 실험을 수행한다면 이번결과를 참고하여 방사선을 사용한 쥐의 피하조직 체내(in-vitro) 조직공학 실험에서 효과적으로 사용 될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 쥐의 피하의 편입된 지지체가 받을 수 있는 선량을 유추해 낼 수 있을 것이다.

Reference

[1] R.E. Jacob , M.K. Murphy , J.A. Creim , J.P. Carlson , "Detecting radiation-induced injury using rapid 3 D variogram analysis of CT images of rat lungs," *Academic Radiology*. Vol.20, No, 10, pp. 1264-1271, 2013.

[2] R.K. Flannigan, R.T Baverstock, ".Management of post-radiation therapy complications among prostate cancer patients: A case series," *Canadian Urological Association Journal*, Vol. 8, No. 9-10, pp. 632-636, 2014.

[3] K. Bourtzis , R.S. Lees , J. Hendrichs, M.J. Vreyse

n, "More than one rabbit out of the hat: Radiation, transgenic and symbiont-based approaches for sustainable management of mosquito and tsetse fly populations", *Acta Tropica*, Vol. 13, No. 157, pp. 115-130, 2016.

[4] I. Papadopoulou, V. Stewart, T.D. Barwick, W.E. Park, N. Soneji, etal. "Post-Radiation Therapy Imaging Appearances in Cervical", *Radiographics*, Vol. 29 No.150, pp. 117-121, 2016.

[5] M.F. Bin Mh Busra , S.R. Chowdhury, F. Bin Ismail , A. Bin Saim , R.H. Idrus, "Tissue-Engineered Skin Substitute Enhances Wound Healing after Radiation Therapy", *Adv Skin Wound Care*, Vol. 29, No. 3, pp. 120-129, 2016.

[6] B. Behr, M.Sorkin, M. Lehnhardt, A. Renda, M.T. Longaker, N.Quarto, A comparative analysis of the osteogenic effects of BMP-2, FGF-2, and VEGFA in a calvarial defect model, *Tissue Eng Part A*, Vol. 18, No. 10, pp.1079-1086, 2012.

[7] S.R. Pajoum Shariati, M.A. Shokrgozar, M. Vossoughi, "In vitro co-culture of human skin keratinocytes and fibroblasts on a biocompatible and biodegradable scaffold", *Iranian Biomedical Journal*, Vol. 13, No. 3 , pp. 169-177, 2009.

[8] J. Kodiyan , K.T. Amber, "Topical antioxidants in radiodermatitis: a clinical review", *Int J Palliat Nurs*, Vol. 21 No. 9 , pp 446-452, 2015.

[9] L. Tian , L.S He , B. Soni , H.T. Shang, "Myofibroblasts and their resistance to apoptosis: a possible mechanism of osteoradionecrosis", *Journal of Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, Vol. 13, No. 4, pp. 21-27, 2012

[10] K.A. Rao , S.R. Shetty , S.G. Babu , R.L. Castelin o, "Osteoradionecrosis of the mandible and mastoiditis after radiotherapy for parotid mucoepidermoid carcinoma", *Journal of Clinical Medicine Research*, Vol. 10, No. 2, pp. 78-82, 2012.

[11] M.T. Nguyen , A. Billington , M.B. Habal, "Osteoradionecrosis of the skull after radiation therapy for invasive carcinoma", *Journal of Craniofacial Surgery*, Vol. 22, No. 5, pp. 1677-1681, 2011.

[12] <http://www.dynamicscience.com.au/tester/solutions1/biology/atdissection/ratdissection.htm> Figure2 image source

쥐의 피부두께에 따른 선량연구

정홍문,¹ 원도연,¹ 김형균,² 정재은,¹ 최현우^{3,*}

¹대구보건대학교 방사선과

²극동대학교 방사선학과

³경북대학교병원 의공학과

요 약

방사선장해 극복을 위한 조직공학실험에서는 다양한 실험방법이 존재한다. 그중에서도 방사선 장해모델을 구현함에 있어서 쥐는 가장 많이 사용되는 실험동물이다. 이번 실험에서는 쥐 피부를 벗긴 후 일정한 두께로 만든 후에 피부 두께에 따른 방사선량을 측정하였다. 또한 쥐의 피부 두께에 따른 방사선 흡수선량을 유추해 낼수 있는 수식을 도식화 하였다. 결론적으로 이러한 수식을 적용한다면 방사선장해극복을 위한 조직공학 연구에서 사용하는 다양한 지지체삽입시에 지지체가 받을 수 있는 방사선량의 정도를 유추해 낼 수 있으며 이것을 통하여 쥐 피부두께 피하에 관한 체내 (in-vitro)실험모델 구현 시 방사선량의 정보를 제공하고자 한다. 따라서 이번 연구의 결과를 기반으로 사용한다면 방사선이 노출된 쥐의 피하조직 체내 (in-vitro) 조직공학 실험에서 효과적으로 사용 될 수 있을 것이다.

중심단어: 쥐 피부선량, 쥐 피부 피폭선량, 쥐 방사선실험모델