

<원저>

흰점박이꽃무지 유충 추출물이 Co-60 감마선에 조사된 수컷 흰쥐의 혈구 및 전립선에 미치는 방사선 방호효과

정근우¹⁾·김장오¹⁾·이윤지¹⁾·김해숙¹⁾·전찬희¹⁾·최제경¹⁾·주성현¹⁾·민병인^{1,2)}

¹⁾인제대학교 재난관리학과·²⁾인제대학교 원자력응용공학부

Radiation Protection Effect of *Protaetia Brevitarsis* Larvae Extracts on Blood and Prostate in Male Rats Irradiated with Co-60 Gamma-ray

Jeong Geun-Woo¹⁾·Kim Jang-Oh¹⁾·Lee Yoon-Ji¹⁾·Kim Hae-Suk¹⁾·Jeon Chan-Hee¹⁾·Choi Jae-Gyeong¹⁾·Joo Sung-Hyun¹⁾·Min Byung-In^{1,2)}

¹⁾Department of Emergency and Disaster Management, Inje University

²⁾Department of Nuclear Applied Engineering, Inje University

Abstract This study is designed to examine for radiation protection effect of *Protaetia Brevitarsis* Larvae extracts on the blood and prostate of male rat as a natural radiation protection agent. 5 groups were classified using 90 male rat as experimental animals. Each group was classified as normal control group (NC Group), the group administered *protaetia brevitarsis* larvae extracts (PBE Group), irradiated group (IR Group), irradiated group after administration of *protaetia brevitarsis* larvae extracts (PBE+IR Group), the group administered *protaetia brevitarsis* larvae extracts after irradiation (IR+PBE Group). In IR Group, 7 Gy/h of Co-60 gamma ray was irradiated to SD rats. In PBE+IR Group, *protaetia brevitarsis* larvae extracts were injected at 200 mg/kg/day for 14 days before irradiation, In IR+PBE Group, *protaetia brevitarsis* larvae extract was injected after irradiation. On the 1, 7 and 21 days after irradiation, the experimental animals were sacrificed to evaluate the changes in blood cell component, superoxide dismutase (SOD) activity, histopathological evaluation of the liver and prostate gland. As a result, the PBE+IR Group and IR+PBE Group showed a significantly recovery of white blood cell ($p < 0.01$, $p < 0.01$), platelet ($p < 0.01$, $p < 0.01$) than the IR Group. It was also confirmed that SOD activity of PBE+IR Group ($p < 0.01$) and IR+PBE Group ($p < 0.01$) was significantly increased than the IR Group. Also PBE+IR Group and IR+PBE Group showed less inflammatory reactions of cytoplasm in the prostate gland than the IR Group. In conclusion, the *protaetia brevitarsis* larvae have radioprotection effect against blood and prostate gland. It is expected to be useful for research of radiation protection agent.

Key Words : *Protaetia brevitarsis* larvae, Radioprotector, Antioxidant, Radioprotection effect, Prostate gland

중심 단어 : 흰점박이꽃무지 유충, 방사선방호제, 항산화, 방사선방호효과, 전립샘

1. 서론

인체가 방사선에 피폭되면 조직에 직접적으로 손상을 주는 직접작용과 자유라디칼 및 활성산소를 생성하여 간접적으로 손상을 주는 간접작용이 발생한다. 그 중 간접작용에

의한 손상은 인체에 약 75 % 이상 작용하는데 방사선과 물 분자의 상호작용으로 생성된 자유라디칼 및 활성산소가 인체 내 DNA를 손상시킨다[1].

항산화 물질은 이러한 자유라디칼 및 활성산소를 제거하는 작용을 가진 물질로써 자유라디칼 및 활성산소로부터

Corresponding author: Byung-In Min, Department of Emergency and Disaster Management, Inje University, 197, Inje-ro, Gimhae-si, Gyeongsangnam-do, 50834, Republic of Korea / Tel: +82-55-320-3910 / E-mail: rimbi@inje.ac.kr

Received 14 April 2021; Revised 28 April 2021; Accepted 28 April 2021

Copyright ©2021 by The Korean Journal of Radiological Science and Technology

발생한 손상을 재생 및 복구하여 피해를 최소화하는 중요한 역할을 한다[2-3]. 항산화 물질은 화학적 합성물을 이용한 연구를 시작으로 방사선 방호제 연구가 진행되었지만 화학적 합성물은 독성이 강하고 부작용이 많아 최근에는 천연물질을 이용한 방사선 방호제의 중요성이 높아지고 있어 연구 및 개발이 활발히 이루어지고 있다[4-8].

흰점박이꽃무지(*protaetia brevitarsis*)는 항산화 물질을 함유한 딱정벌레목 꽃무지과에 속하는 곤충으로 이것의 유충(larvae)을 굼벵이라고 부른다[9]. 전체 길이는 약 17 ~ 24 mm 정도의 식식성 곤충으로 올레산 (oleic acid), 팔미트산 (palmitic acid), 팔미톨레산 (palmitoleic acid), 리놀레산 (linoleic acid), 스테아르산 (stearic acid) 등을 함유하고 있어 항암 및 항산화 효과가 있다고 보고되고 있다 [10-13]. 또한 여러 약리적인 효과를 갖추고 있어 식품공전에 정식 등재되면서 전 세계적으로 미래 식량자원으로써의 관심 및 연구가 증대되고 있지만 아직까지 방사선 피폭에 따른 방호효과에 관한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 흰점박이꽃무지 유충 추출물이 방사선 방호제로써의 가능성을 알아보기 위하여 수컷 SD Rat에 흰점박이꽃무지 유충 추출물을 투여하고 방사선 피폭에 따른 방호효과를 규명하고자 하였다.

II. 대상 및 방법

1. 흰점박이꽃무지 유충 추출물 제조

흰점박이꽃무지 유충은 무선산 굼벵이 농장(Jinju; Korea)에서 공급받아 사용하였다. 흰점박이꽃무지 3령 유충을 절식상태로 배변을 유도한 후 1주일 동안 냉동 건조하여 보관하였다. 이후 분쇄하여 얻은 분말시료 50 g과 70%에탄올 2 L를 혼합하여 3시간 동안 90 °C에서 끓여 에탄올을 제거하였고 3회 반복하여 추출한 후 여과지(Whatman International Ltd, Maidstone, UK)로 여과하여 획득한 시료를 실험에 사용하였다.

2. 실험동물 관리 및 사육

실험동물과 관련된 모든 취급은 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)의 승인 (승인번호: 인제 2020-019호)하에 수행되었다. 실험동물은 4주령의 실험용 수컷 쥐 (Sprague-Dawley Rat, Hana Biotech, Pyeongtaek, Korea)를 사용하였다. 환경은 온도 21±2 °C, 습도 55±5 %, 조명 12 hour/day 로 조성

하였다. 1주일간의 검역 순화기간을 가졌으며 실험은 Table 1과 같이 일반군 (NC), 흰점박이꽃무지 유충 추출물투여군 (PBE), 방사선조사군 (IR), 흰점박이꽃무지 유충 추출물 투여 후 방사선조사군 (PBE+IR), 방사선 조사 후 흰점박이꽃무지 유충 추출물투여군 (IR+PBE)으로 5개의 그룹으로 나누어 편성하였다. 흰점박이꽃무지 유충 추출물은 200 mg/kg 용량으로 매일 1회 2 cc를 경구투여용 존대(oral zonde)를 이용하여 14일간 투여하였다. 방사선 조사에 따라 1일차, 7일차, 21일차에 혈구 성분변화, 항산화 효소(SOD) 활성, 조직 병리학적인 분석을 하였다.

Table 1. Animal groups for the study after treatment

Division	1 day	7 days	21 days	Total
NC	6	6	6	18
PBE	6	6	6	18
IR	6	6	6	18
PBE+IR	6	6	6	18
IR+PBE	6	6	6	18
Total	30	30	30	90

NC: Normal control

PBE: *Protaetia brevitarsis* larvae extract

IR: Irradiation

PBE+IR: Irradiation after *protaetia brevitarsis* larvae extract

IR+PBE: *Protaetia brevitarsis* larvae extract after Irradiation

3. 방사선 조사

실험동물의 방사선 조사는 Fig. 1과 같이 저준위 감마선 조사장치인 IR-222 Dry Storage Irradiator (MDS Nordion, Canada)를 이용하였다. 방사선이 정확하게 조사되기 위하여 동물전용 종이 케이스(60.5 × 32.5 × 23 cm³)를 실험동물을 넣고 Co-60 선원으로부터 192.5 cm거리에서 1.17 MeV, 1.33 MeV의 감마선을 7 Gy/h의 선량률로 1시간 동안 전신을 향해 조사하였다.



Fig. 1. IR-222 dry storage irradiator used in SD rat irradiation.

4. 혈액학적 관찰

채취혈액은 방사선 조사 후 1일, 7일, 21일에 SD Rat의 복강 대정맥을 통해 얻었다. 채취 후 동물용 EDTA 0.5 cc Tube에 보관 후 즉시 Coulter mixer를 이용하여 응고를 방지하였다. 혈액은 동물전용 혈구분석기(mindray BC-2800VET, China)를 이용하여 백혈구와 혈소판을 분석하였다. 통계적 유의성을 위해 각 군은 개체 당 3회의 혈액검사를 시행하여 총 횟수의 평균값을 이용하였다.

5. SOD assay

Marklund 등[14] 기법을 응용하여 SOD(superoxide dismutase)의 활성도를 측정하였다. 방사선 조사 후 7일, 21일차에 실험동물 SD Rat의 정맥을 통해 채취한 혈액은 4 °C에서 600 g로 10분간 원심분리 하여 혈장을 시료로 준비하였다. SOD 활성을 측정하기 위해 시료를 Dilution buffer로 1, 1/5, 1/5², 1/5³, 1/5⁴, 1/5⁵, 1/5⁶의 비율별로 희석하였고 SOD Assay kit -WST (Dojindo Inc, R^oCkville, MD, Japan)를 사용하여 제공된 매뉴얼 방법에 따라 시료 20 µL를 96-well plate에 분주하였다. SOD activity는 ELISA reader (biotek, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

SOD activity(%)

$$= \frac{[(A_{blank1}-A_{blank3})-(A_{sample}-A_{blank2})]}{(A_{blank1}-A_{blank3})} \times 100$$

6. 조직학적 분석

관찰 대상인 간, 전립선은 방사선 조사 후 1일, 7일, 21일차에 채취하였다. 적출한 조직은 10 % Formalin을 제조하여 보관한 후 70 % Ethanol로 조직을 탈수한 후 Xylene으로 치환하여 Paraffin bl^oCk을 제작하였다. 제작한 Paraffin bl^oCk을 슬라이드로 분할하여 Hemotoxylin and Eosin Stain (H&E staining)하여 광학 현미경으로 관찰하였다.

7. 통계 처리 및 분석

실험결과는 IBM SPSS statistics version 26을 이용하여 T-test로 분석하여 평균 ± 표준편차(Mean±SD)로 표시하였다. p<0.05 수준에서 각 실험 군 간의 유의성을 검정하였다.

III. 결 과

1. 혈액학적 관찰

방사선 조사 후 1일차에는 Table 2와 같이 백혈구의 수치가 IR Group에 비하여 PBE+IR Group (p<0.05)에서 유의하게 감소가 완화되었고, 7일차에는 Table 3과 같이 혈소판의 수치가 IR Group에 비하여 PBE+IR Group (p<0.01)과 IR+PBE Group (p<0.05)에서 유의하게 감소가 완화되어 방사선 방호효과가 나타났다.

방사선 조사 후 21일차에는 Table 2, 3과 같이 백혈구, 혈소판의 수치가 IR Group에 비하여 PBE+IR Group (p<0.01)과 IR+PBE Group (p<0.01)에서 유의하게 증가하여 회복하였다

2. SOD assay

방사선 조사 후 7일차에 혈액 SOD 활성도는 Table 4와 같이 방사선 조사군인 IR Group (3.25±0.54 U/ml), PBE+IR Group (23.05±1.17 U/ml), IR+PBE Group (38.55±0.85 U/ml)에서 뚜렷하게 감소한 활성이 나타났다. 방사선 조사 후 21일차에 혈액 SOD 활성도는 IR Group에 비하여 PBE+IR Group (p<0.01)과 IR+PBE Group (p<0.01)에서 유의하게 증가하여 더 높은 활성을 나타내었다.

Table 2. WBC(10³/µL) after Irradiation

Division	1 day	7 days	21 days
NC	8.53±1.18	7.83±1.49	7.71±1.08
PBE	8.71±1.23	8.53±1.10	8.88±0.88
IR	0.16±0.14	1.11±0.26	3.23±0.24
PBE+IR	0.31±0.08*	1.25±0.58	4.48±0.53**
IR+PBE	0.23±0.08	1.26±0.75	5.18±0.40**

*p<0.05, **p<0.01 as compared with IR Group

Table 3. Platelet(10⁶/µL) after Irradiation

Division	1 day	7 days	21 days
NC	1.57±0.17	1.69±0.08	1.63±0.14
PBE	1.52±0.18	1.68±0.10	1.65±0.20
IR	1.40±0.12	0.15±0.02	0.95±0.09
PBE+IR	1.49±0.18	0.20±0.01**	1.30±0.09**
IR+PBE	1.48±0.16	0.18±0.01*	1.43±0.08**

*p<0.05, **p<0.01 as compared with IR Group

Table 4. SOD Activity(U/ml) after Irradiation

Division	7 days	21 days
NC	90.05±1.82	90.08±1.91
PBE	95.06±2.38	100.1±3.29
IR	3.25±0.54	18.05±2.03
PBE+IR	23.05±1.17	82.51±0.31**
IR+PBE	38.55±0.85	81.58±2.08**

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ as compared with IR Group

3. 조직학적 관찰

방사선 조사 후 간 Fig. 2와 전립샘 Fig. 3은 NC Group과 PBE Group에서는 세포질이 균질한 형태를 나타내고 있었지만 방사선이 조사된 IR Group, PBE+IR Group, IR+PBE Group에서는 세포질의 팽창과 일부 핵이 응축된 형태의 소견이 관찰되었다. 간은 IR Group에 비하여 PBE+IR Group에서, 전립샘은 IR Group에 비하여 PBE+IR Group과 IR+PBE Group에서는 세포질의 팽창 및 핵의 응축된 형태가 소폭 감소되었다.

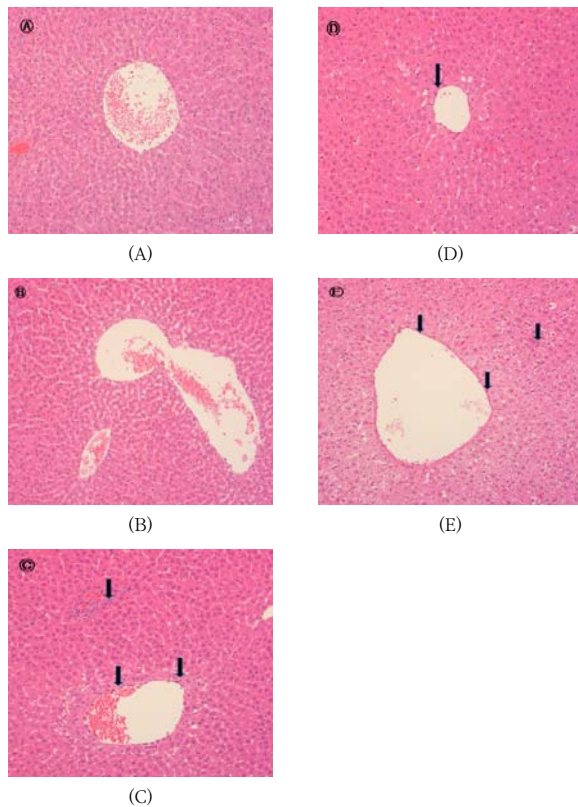


Fig. 2. Observation Liver of SD Rat by H&E staining after 7 Gy irradiation (A, B, C, D, E)
 (A) NC (B) PBE (C) IR (D) PBE+IR (E) IR+PBE

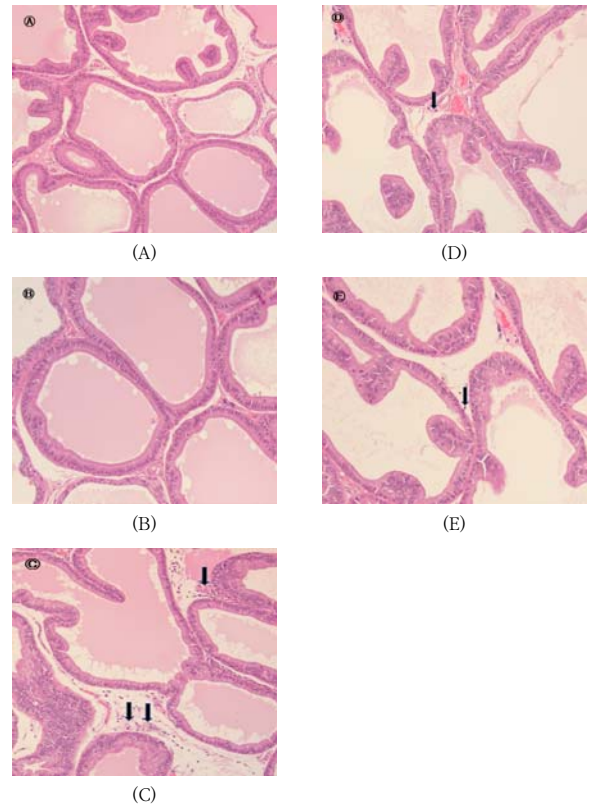


Fig. 3. Observation Prostate gland of SD Rat by H&E staining after 7 Gy irradiation (A, B, C, D, E)
 (A) NC (B) PBE (C) IR (D) PBE+IR (E) IR+PBE

IV. 고찰

본 연구에서는 흰점박이꽃무지 유충 추출물의 방사선 방호효과를 확인하기 위하여 흰점박이꽃무지 유충 추출물을 경구투여하고 방사선을 조사하여 1일차, 7일차, 21일차에 혈구 성분변화, 항산화 효소(SOD) 활성, 조직 병리학적 분석을 하였다.

혈구 성분은 IR Group과 비교하여 1일차에는 PBE+IR Group의 백혈구($p<0.05$), 7일차에는 PBE+IR Group의 혈소판($p<0.01$)과 IR+PBE Group의 혈소판($p<0.05$)에서 유의하게 감소가 완화되었고, 21일차에는 IR Group과 비교하여 PBE+IR Group의 백혈구($p<0.01$), 혈소판($p<0.01$)과 IR+PBE Group의 백혈구($p<0.01$), 혈소판($p<0.01$)에서 유의하게 증가한 회복이 나타났다. 따라서 흰점박이꽃무지 유충 추출물은 방사선 피폭에 의한 혈액 성분변화에 대해 방호효과가 있는 것으로 사료된다. 특히 선행연구[6-10]와 비교하여 본 연구에서는 방사선을 조사한 후 물질을 투여한

IR+PBE Group을 추가하였다. 방사선 조사 후 흰점박이꽃무지 유충 추출물을 투여한 IR+PBE Group은 7일차부터 혈소판의 감소에 대한 방어를 나타내기 시작하여 21일차에는 백혈구, 혈소판에 대한 회복효과가 뚜렷하게 나타났다. 이는 방사선에 의해 손상된 혈액 성분이 흰점박이꽃무지 유충 추출물에 의해 회복된 것으로 사료된다.

항산화 효소(SOD) 활성도는 7일차에는 방사선을 조사한 IR Group, PBE+IR Group, IR+PBE Group에서 뚜렷하게 감소하는 활성이 나타났고, 21일차에는 IR Group에 비하여 PBE+IR Group ($p<0.01$)과 IR+PBE Group ($p<0.01$)에서 유의하게 증가한 활성이 나타났다. 이로써 흰점박이꽃무지 유충 추출물이 SOD의 활성을 증가시킴으로써 방사선 방호효과를 확인하였다. SOD 활성의 증가가 방사선에 대한 저항성을 증가시킨다는 보고[15]에 따라 흰점박이꽃무지 유충 추출물은 SOD 활성을 증가시키는 성분으로 방사선 방호효과를 나타내는 것으로 사료된다.

흰점박이꽃무지 유충은 에탄올 및 사염화탄소에 의한 간 손상을 보호하는 것으로 보고되고 있다[16-17]. 간은 IR Group에 비해 PBE+IR Group에서는 세포질의 팽창과 핵의 응축이 소폭 감소된 것이 관찰되어 흰점박이꽃무지 유충 추출물이 방사선조사로 인한 간 손상을 줄이는 효과를 확인하였다. 전립샘은 IR Group에 비해 PBE+IR Group과 IR+PBE Group에서는 세포질의 팽창과 핵의 응축이 소폭 감소되었다. 흰점박이꽃무지 유충 추출물이 방사선 조사로 인한 전립샘에 방사선 방어효과를 나타내며 손상된 세포의 복구를 촉진시켜 전립선에 중요한 방호역할을 하는 것으로 사료된다.

V. 결 론

인체가 방사선에 노출될 때 흰점박이꽃무지 유충 추출물의 방사선 방호효과를 확인하기 위해 7 Gy의 Co-60 감마선을 SD Rat에 조사하여 실험하였다. 흰점박이꽃무지 유충 추출물 섭취 후 방사선 조사를 받은 군과 방사선 조사 후 흰점박이꽃무지 유충 추출물을 섭취한 군은 방사선 조사만 받은 군에 비하여 백혈구와 혈소판에서 감소가 완화되고 회복이 촉진되는 것을 확인하였다. 또한 SOD 활성에서 activity의 증가로 항산화 활성을 확인하였고, 간과 전립선에서는 세포의 손상이 완화되는 것을 확인하였다.

따라서 본 연구는 흰점박이꽃무지 유충 추출물이 방사선 피폭에 따른 방호기전에 기여하는 것을 확인한 것으로 제시된 결과물은 흰점박이꽃무지 유충을 이용한 방사선방호제

연구에 유용한 기초적인 자료로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

REFERENCES

- [1] Hall J, Angele S. Radiation, DNA damage and cancer. *Mol Med Today*. 1999;5(4):157-164.
- [2] Kim YH. Clinical application of antioxidants. *Surgical Metabolism and Nutrition*. 2011;2(1):11-15.
- [3] Forrester HB, Yeh RF, Dewey WC. A dose response for radiation-induced intrachromosomal DNA re-arrangements detected by inverse polymerase chain reaction. *Radiation Research*. 1999;152:232-238.
- [4] Choi HS, Choi JH, Jung DY, Kim JO, Shin JH, Kim JH, Min BI. Radiation protection effect of selenium on the rat's prostate. *Journal of Radiological Science and Technology*. 2017;40(2):317-322.
- [5] Jung DY, Choi HS, Kim JO, Shin JH, Kim JH, Park GJ, Min BI. Radiation protective effect of selenium and folic acid mixtures in the development of congenital anomalies following radiation exposure to the fetus of perinatal female white rats. *Journal of Radiological Science and Technology*. 2018;41(2):157-162.
- [6] Kim JO, Choi JH, Shin JH, Jung DY, Min BI. The effects of cynanchi wilfordii radix ethanol extracts upon irradiated rat's blood and organ. *Journal of Radiological Science and Technology*. 2016;39(3):451-459.
- [7] Chung IY, Koh JH, Chung HW, Chil SY, Yoo SY, Koh KH. An experimental study on radioprotective effect of DDC, MEA, and WR-2721. *Journal of Radiation Protection and Research*. 1986;11(2):114-122.
- [8] Jang SI, Lee JH. Radioprotective effects of blueberry on the liver of radiation irradiated rats. *Journal of the Korean Society of Radiology*. 2013;7(3):239-244.
- [9] Lee HS, Ryu HJ, Song HJ, Lee SO. Enzymatic preparation and antioxidant activities of protein hydrolysates from protaetia brevitarsis larvae. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2017;46(10):1164-1170.

- [10] Angerer P, Schacky CV. n-3 Polyunsaturated fatty acids and the cardiovascular system. *Current Opinion in Lipidology*. 2000;11(1):57-63.
- [11] Singer P, Jaeger W, Berger I. Effects of dietary oleic, linoleic and alpha-linolenic acids on blood pressure, serum lipids, lipoproteins and the formation of eicosanoid precursors in patients with mild essential hypertension. *Journal of Human Hypertension*. 1990;4(3):227-233.
- [12] Om AS, Chung KW. Dietary zinc deficiency alters 5 α -reduction and aromatization of testosterone and androgen and estrogen receptors in rat liver. *The Journal of Nutrition*. 1996;126(4):842-848.
- [13] Natali F, Siculella L, Salvati S, Gnoni GV. Oleic acid is a potent inhibitor of fatty acid and cholesterol synthesis in C6 glioma cells. *Journal of Lipid Research*. 2007;48(9):1966-1975.
- [14] Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*. 1974;47(3):469-474.
- [15] Petkau A. Role of superoxide dismutase in modification of radiation injury. *Br J Cancer Suppl*. 1987;8:87-95.
- [16] Kang IJ, Kim HK, Chung CK, Kim SJ, Oh DH. Effects of *Protactia Orientalis* (Gory et Perchlon) larva on the lipid metabolism in ethanol administered rats. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2000;29(3):479-484.
- [17] Chon JW, Kweon HY, Jo YY, Yeo JH, Lee HS. Protective effects of extracts of *protactia brevitaris* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the mice. *J Seric Entomol Sci*. 2012;50(2):93-100.

구분	성명	소속	직위
제1저자	정근우	인제대학교	박사수료
공동저자	김장오	인제대학교	이학박사
공동저자	이윤지	인제대학교	이학석사
공동저자	김해숙	인제대학교	대학원생(박사)
공동저자	전찬희	인제대학교	대학원생(석사)
공동저자	최제경	인제대학교	대학원생(석사)
공동저자	주성현	인제대학교	대학원생(석사)
교신저자	민병인	인제대학교	교수