

# 해양 방사능 오염에 대비한 엽산과 토코페롤 혼합물의 방사선 방호효과에 관한 연구

신지혜\* · 민병인\*\*†

\* 한국해양과학기술원 해양환경연구부 기술원, \*\* 인제대학교 의생명보건대학 방사선학과 교수

## A Study on Radioprotective Effects of Folic Acid and $\alpha$ -Tocopherol Mixture against Marine Radioactive Contamination

Ji-Hye Shin \* · Byung-In Min \*\*†

\* Research Specialist, Marine Environment Research Department, Korea Institute of Ocean Science and Technology (KIOST), Busan 49111, Korea

\*\* Professor, Department of Radiological Science, Inje University, Gimhae 50834, Korea

**요약** : 2011년 일본 후쿠시마 원자력발전소 사고로 인해 130만 톤 이상의 방사능 오염수가 발생하였고, 2023년부터 일본 정부는 다량의 오염수를 바다로 방류하고 있다. 이 사고는 해양방사능 오염에 대한 우려와 해산물 섭취에 대한 불안감을 증가시켰으며, 특히 수산물 소비량이 높은 우리나라에서 방사선감수성이 높은 어린이와 태아에게 미치는 영향에 대한 걱정 등을 야기시켰다. 이러한 해양 방사능 오염 사태를 포함한 다양한 해양 방사능 누출 사고에 대비하기 위해 방사선 방호물질에 대한 연구의 필요성이 증대되고 있다. 천연 방사선 방호제는 화학적 방사선방호제에 비해 부작용이 적고 상용화가 용이하다. 따라서 본 연구는 천연 항산화물질인 엽산과  $\alpha$ -토코페롤 혼합물이 방사선으로부터 생체를 보호하는 기능을 확인하고자 하였다. 실험은 방사선감수성이 높은 태아를 대상으로 하기 위하여 Sprague-Dawley rat (SD rat)을 사용하여 임신을 유도하였으며, 출산 후 2세대의 골격계, 혈액분석, 체중, 비장, 뇌 및 소장을 관찰하였다. 혈액분석과 소장의 용모길이, 대뇌피질 두께 측정에서 혼합물 투여 후 방사선조사군이 비교군(방사선조사군)에 비해 유의미한 회복( $p<0.05$ )을 보였으며, 이는 엽산과  $\alpha$ -토코페롤 혼합물이 해양 방사능 오염 환경에서 생체 내 방사선방호에 효과적임을 시사한다.

**핵심용어** : 후쿠시마, 방사능 사고, 해양 오염, 방사선방호제, 엽산, 토코페롤, 항산화

**Abstract** : In 2011, the Fukushima nuclear power plant accident in Japan resulted in more than 1.3 million tons of radioactive contaminated water, and the Japanese government has been releasing large amounts of contaminated water into the ocean since 2023. This accident has raised concerns about marine pollution and seafood consumption, as well as the effects on highly radiosensitive children and fetuses. Radiation protection materials are being researched to better prepare for various radiation accidents, including marine radioactive contamination incidents. Natural radioprotectors have fewer side effects and are more easily commercialized than chemical radioprotectors. This study aimed to confirm the function of a mixture of folic acid and  $\alpha$ -tocopherol, natural antioxidants, in protecting living organisms from radiation. In the experiment, Sprague-Dawley rats (SD rats) were used to induce pregnancy to target fetuses with high radiation sensitivity, and the second generation's skeletal system, blood analysis, body weight, spleen, brain, and small intestine were examined after birth. After administering a mixture of folic acid and  $\alpha$ -tocopherol, the irradiated group showed significant recovery ( $p<0.05$ ) in blood analysis, small intestinal villus length, and cerebral cortex thickness measurements compared to the comparison group (irradiated group), suggesting that the mixture of folic acid and  $\alpha$ -tocopherol is effective for in vivo radioprotection in a radioactive contaminated environment.

**Key Words** : Fukushima, Radiation accident, Marine pollution, Radioprotection agent, Folic acid, Tocopherol, Antioxidant

\* First Author : jjyejye@kiost.ac.kr, 051-664-3009

† Corresponding Author : rimbi@inje.ac.kr, 055-320-3469

## 1. 서론

2011년 일본 대지진으로 인한 후쿠시마 원전사고는 원자력발전소의 안전성과 해양환경에 대한 전 세계적인 관심을 크게 증대시켰다. 특히, 후쿠시마 원전사고 발생 이후 2013년 도쿄전력 발전소 항구 내부에서 잡힌 가장 높은 오염도를 기록한 쥐노래미의 방사능량은 습중량 740,000 Bq/kg으로, 이는 과거 일본 해양생물환경연구소가 일본 연안에서 1984년부터 1997년까지 분석한 어류의  $^{137}\text{Cs}$  방사능 농도 범위인 0.004(붕장어)~0.67(농어) Bq/kg-fresh 과 비교했을 때 매우 높은 수치이다(Nicholas et al., 2013; Yoon et al., 2010). 또한 후쿠시마 원전사고로 인해 태평양으로 유입된 방사성세슘은 대기 중으로 12~15 pBq, 해수 중으로 3~5 pBq 정도 유입된 것으로 추정된다(Kaeriyama et al., 2016).

2021년 일본 정부는 후쿠시마 원자력발전소에서 발생한 오염수를 바다로 방류하기로 결정하였고, 2023년 8월부터 지속적으로 방류하고 있다. 2024년 6월 4일 기준으로 누적 46,888톤의 오염수가 해양으로 방류되었으며, 앞으로 약 30년간 계속하여 방류할 예정이다(Tokyo Electric Power Company Holdings, 2024). 방사능 오염수는 ALPS(Advanced Liquid Processing System)로 처리하여 해양으로 방출되지만, 해양환경오염에 대한 불안과 수산물 섭취에 대한 두려움은 여전하다. 2024년 6월 우리나라에서도 월성원자력발전소에서 사용후연료저장조 저장수 약 2.3톤이 해양으로 누설되는 사건이 있었다. 이에 대한 환경영향평가에서는 문제가 없었지만, 언제 발생할지 모르는 원전 및 방사능 누출 사고에 대비하여 해양환경에 미치는 영향을 보다 명확히 파악하고, 이에 대비할 필요성이 있다.

현재 해양 방사능 오염을 비롯한 다양한 환경 방사능 누출 및 오염사고에 대비해 인체를 보호할 수 있는 여러 방사선 보호제에 대한 연구가 이루어졌다. 싸이올(Thiol) 복합체인 아미포스틴(Amifostine), 사이토카인(Cytokines), 면역조혈계 등의 방호효과가 입증되었지만, 이러한 화학적 합성물질 등은 강한 독성으로 인해 생체 내에서 부작용이 많고, 고가라는 한계가 있다(Milas et al., 1982; Neta, 1988). 이에 따라 독성이 적고 쉽게 구할 수 있는 인삼, 홍삼, 프로폴리스 등 천연물질의 방사선방호제의 개발연구가 많이 이루어지고 있다(Kim et al., 1996; Kim et al., 2001; Kim and Chang, 1998; Jung, 2005; Ji and Lee, 2010).

방사선에 피폭되면 같은 선량이라도 나이, 성별, 피폭 부위 등 각자의 감수성에 따라 피해의 정도가 다르게 나타난다. 1986년 체르노빌 원전사고로 인해 많은 인명피해와 재산피해가 발생하였다. 당시 주요 피해국가에서 여러 세대에 걸쳐 태아의 선천성기형이 높은 확률로 발생하였고, 주변 국가에서도 자궁 내 선천성기형 발생이 자궁 경부에서 관찰되었다(Yablokov et al., 2009). 이러한 이유로 본 연구는 방사

선에 민감한 태아를 대상으로 진행하고자 한다. 또한 염산과 토코페롤 물질의 항산화 활성 특성을 이용하여 두 혼합물의 방사선 방호효과를 확인하고자 한다. 본 연구 결과를 바탕으로 이 혼합물질이 임신부와 태아에게 방사선에 대해 방호적인 역할을 한다는 것을 제안하고, 더 나아가 해양환경의 오염 상황에서도 다양한 환경 내 생물체에 방호적인 기능을 포함하는 데 그 목적을 둔다.

## 2. 이론적 배경

### 2.1 방사선과 인체와의 상호작용

방사선이 생물체에 조사되면 유기물 분자에 흡수되어 분자를 전리 또는 여기시켜 구조변화를 유발하는데, 이를 직접작용이라고 한다. 직접작용은 세포의 원자나 분자에 직접 작용하며, 생체영향의 약 25%에 해당한다. 나머지 약 75%는 간접작용에 의한 영향으로 인체 내의 물과 상호작용하여 발생한다. 인체를 구성하고 있는 물질 중 약 70%는 물로 간접작용은 세포질 내 물을 이온화시켜 자유라디칼 및 과산화물을 형성한다.

물분자가 이온화되면 양이온 물분자( $\text{H}_2\text{O}^+$ )와 하나의 수화전자( $e_{aq}^-$ )가 방출되며, 방출된 수화전자는 다른 물분자와 반응하여 음이온 물분자( $\text{H}_2\text{O}^-$ )를 생성한다. 양이온 물분자와 음이온 물분자는 매우 불안정하므로  $10^{-13}$ 초 이내에 다른 물분자와 반응하여 이온과 자유라디칼로 분해된다. 물 분자의 방사분해로 생성된  $\text{H}^+$ ,  $\text{OH}^-$ 이온이 갖고 있는 반응력은 약하나 1차 자유라디칼인  $e_{aq}^-$ ,  $\text{H}\cdot$ ,  $\text{OH}\cdot$ 는 반응력이 강하다. 생성된 부위에서 자유라디칼이 서로 반응하여  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 생성한다. 2차 자유라디칼인  $\text{HO}_2\cdot$ ,  $\text{O}_2^-$ 는 1차 자유라디칼에 비해 반응력이 약하여 생체 내 먼 곳까지 이동하여 상호작용이 가능하다. 이러한 원리로 자유라디칼 및 과산화물이 생체 내에서 다양한 세포성분과 반응하여 대사장애를 일으킨다.

생성물 중  $\text{O}_2^-$ 는 생체 내에서 과산화물제거효소(Superoxide dismutase, SOD)에 의해서,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 는 카탈라아제(Catalase) 및 과산화효소(Peroxidase) 등에 의해서 제거된다. 따라서 방사선방호제의 기전 중 하나의 방법으로 방사선으로 인한 산화물질을 억제 및 제거함으로써 방호제로서의 역할을 할 수 있다.

### 2.2 임신과 방사선 피폭

임신 중 방사선 피폭은 엄격히 피해야 한다. 배란일은 월경 개시일로부터 12~14일째로, 여성 하복부의 방사선 검사는 월경 개시일로부터 10일 이내에 이루어져야 한다. 그러나 임상적인 긴급성 또는 사고로 인해 태아가 방사선에 노출되

는 경우가 있을 수 있다.

자궁 속 태아의 경우 출생 후 혹은 성장된 개체에 비해 방사선감수성이 높으며, 방사선에 의한 태아에 미치는 영향으로는 치사작용, 기형의 발생, 발육장애 등이 있다. Russell 부부는 자궁 내의 전체 발생단계를 착상전기, 기관형성기, 태아기의 3단계로 나누었다. 착상전기는 수정 후에서부터 수정란이 자궁벽에 착상할 때까지의 기간으로 방사선피폭에 의한 장해로는 유산, 태내사망이 주를 이룬다. 기관 형성기는 세포의 분화가 급속히 진행되어 주요 기관계가 형성되는 시기이다. 0.1 Gy 이상의 피폭이 되면 기형이 발생할 가능성이 있으며, 0.25 Gy에서는 약 10%의 확률로 기형이 발생하는 것으로 알려져 있다. 2 Gy 이상에서는 어떤 종류이던 기형이 반드시 생기는 것으로 보며, 2 Gy를 기준으로 태아시기의 기형을 연구한 선행연구도 많이 있다(Lee et al., 2001; Lee et al., 2007). 태아기는 이미 형성된 기관이 발육하는 시기로 정신 및 신체 발달지체, 발육지연 등이 나타난다. 하지만 이와 같은 장해들은 약제나 영양장해 태반의 혈류장해 등에서도 발생할 수 있어, 반드시 방사선 피폭이 원인이라고 판단하기는 어렵다.

## 2.3 엽산과 토코페롤의 성분 및 효능

### 1) 엽산

엽산은 초록색 식물에 널리 분포된 비타민 B군에 속하는 수용성 비타민이다. 엽산은 생체 내에서 5,6,7,8-테트라히드로 형태로 각종 C1단위인 포르밀기, 메테닐기, 메틸렌기, 메틸기, 포름아미노기 등의 전달반응에 관여하는 효소의 조효소가 된다. 또한 DNA 구성성분인 염기의 계열로써 퓨린, 피리미딘의 대사와 단백질 합성개시, 아미노산의 종류인 글리신, 메티오닌, 히스티딘 등의 대사에 관여한다. 엽산은 세포분열과 성장에 중요한 역할을 하며, 특히 DNA 복제에 관여하는 효소의 조효소로 작용한다. 또한 비타민 B12와 결합해 성장 발달과 적혈구 생산에 관여하며, 뇌에서 신경전달 물질인 노르아드레날린의 분비를 촉진시킨다.

엽산 섭취에 따른 영향에 대한 연구 중 임신부의 경우, 엽산 결핍이 인지능력에 영향을 줄 수 있으며, 태아의 체중과 태반무게 등 모체조직의 성장과 상관이 있다는 연구결과가 있다. 그 외에도 임신부의 엽산 영양상태에 따른 신생아의 뇌 건강 상태 등 자손에게 미치는 영향에 대한 연구가 많이 있다(Chae et al., 2007).

### 2) 토코페롤

토코페롤은 비타민 E의 종류로써 지용성 항산화제이다. 비타민 E는 식품에서 총 8종류의 형태로 나타나는데, 네 종류의 토코페롤(tocopherol:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ )과 네 종류의 토코트리엔놀(tocotrienol:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ )이다. 이 중  $\alpha$ -토코페롤( $\alpha$ -tocopherol)이 가장 흔하고 생체활성이 커 비타민 E의 대명

사처럼 사용된다. 비타민 E는 분자구조상 Hydrophobic prenyl tail이 존재하여 세포막 안으로 쉽게 투과하여 Singlet oxygen, Superoxide-anion radicals 등 자유라디칼의 청소제(Scavenger) 역할을 한다(Getoff, 2009). 세포막을 구성하는 불포화지방산 등 세포 내에서 산화되기 쉬운 물질이 이를 억제함으로써 세포막의 손상을 막아주어 조직을 보호한다(Choi et al., 1993).

따라서 토코페롤이 결핍된 경우 나타나는 신경학적 증상은 일반적으로 항산화-보호효과의 장애로 설명된다(Satya-Mutri et al., 1986). 성인에게 비타민 E의 투여가 인지기능의 저하를 막는다고 주장하는 대부분의 연구에서도 이러한 효과로 보고 있다(Morris et al., 2002). 또한 암 예방에서의 비타민 E 섭취권장을 하는 연구결과(Mo et al., 2008)와 그 항산화 효과로 인한 방사선방호제로써의 연구도 있다(Park et al., 2010). 토코페롤을 잘 섭취할 경우 2세대 쥐에서 간 조직의 SOD 활성, GSH-Px 활성에 영향을 미쳤다는 사전 연구 결과도 있어(Hwang et al., 2002), 암 환자나 임신부 등 여러 사람들에게 각광받고 있다.

## 2.4 엽산과 토코페롤의 방사선방호제로서의 이론적 고찰

엽산은 임신부에 대한 영향 및 결핍에 의한 혈장과 조직에 미치는 결과 등에 관한 연구가 주를 이루고 있다. 엽산 자체로는 항산화제는 아니지만 항산화 네트워크를 활성화시킨다. 또한 세포분열을 활성화하여 DNA 합성에 반드시 필요한 물질이다. 토코페롤도 마찬가지로 2세대에 미치는 간 조직과 혈청의 SOD 활성, 결핍에 대한 영향 등이 주로 연구되고 있다. 토코페롤은 막 안에 존재하면서 산화반응을 억제하여 다량의 지방산을 포함하는 구조에서 중요하다. 방사선방호제는 기본적으로 방사선에 의해 발생한 자유라디칼의 산화작용을 막아 신체를 손상시키는 기전을 막을 수 있어야 한다. 따라서 이 두 물질이 생체 내 긍정적 영향을 미치면서 방사선방호제로서 유의한 결과를 나타낼 수 있는 물질이라고 판단된다.

## 3. 실험재료 및 실험방법

### 3.1 실험재료

#### 1) 엽산·토코페롤 혼합물의 준비

엽산(Folic acid, PGA)과 토코페롤( $\alpha$ -tocopherol, Vit.E)은 모두 R&D용으로 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 엽산(C19H19N7O6, 97%)은 분말형태, 토코페롤(C29H50O2, 430.71 g/mol)은 액체 상태인 것으로 구매하였다. 실험 SD Rat이 300 g이라는 평균체중에 기준하여 엽산은 0.6 mg/300 g, 토코페롤은 15 mg/300 g을 탈 이온수에 묶혀 첨가하여 사용하였다. 먼저 엽산 분말을 무게를 재어 용기에 담은 뒤 증류수를 30 ml까지 채워주었다. 그 뒤에 토코페롤을

용량에 맞게 용기에 넣고 vortex를 이용하여 섞어주었다. 각 시약의 용량은 실험동물의 주령 및 체중에 맞게 유동적으로 넣어주며, 혼합물을 1:1의 비율로 혼합하여 사용하였다.

**2) 실험동물 사육 및 실험군 편성**

생후 7 주령의 Spraque Dawley rat(SD rat) 암컷(체중 165~184 g), 수컷(체중 200~229 g)을 하나바이오(경기)로부터 구입하여 사용하였다. 사육은 인제대학교 동물자원센터 Clean Room에서 자동화설비로 온도 21±2 °C, 습도 55±5 %, 조명시간 12시간/Day Cycle로 유지된다. 실험동물은 7일간의 검역순화를 거치면서 표준사료와 탈이온수를 공급하여 환경에 적응시키고, 암컷과 수컷을 분리하여 암컷의 성 동기화를 유도하였다.

8주령이 되었을 때, 각 군당 암컷 6마리, 수컷 3마리, 2대 1의 비율로 실험군을 편성하였다. 표준사료와 탈이온수만 섭취한 일반대조군, 혼합물질 투여군, 2 Gy 방사선조사 비교군, 혼합물질 투여 후 2 Gy 방사선조사군으로 나누어 진행하였다(Table 1). 시료는 일정한 공급을 위해 경구투여의 방법으로 위장에 직접 주입하였다. 혼합시료는 300 mg/kg/day의 용량으로 14일간 1일 1회 일정한 시간에 경구투여하였다.

실험동물의 모든 취급은 인제대학교 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인(승인번호 : 인제2016-019)하에 수행되었다.

Table 1. Data of experimental animal

Division	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Female	6	6	6	6
Male	3	3	3	3

Group 1 : Normal Control  
 Group 2 : Normal Control + PGA·VitE Mixture (300 mg/kg) was Oral Administration  
 Group 3 : Normal Control + 2 Gy Radiation  
 Group 4 : Normal Control + PGA·VitE Mixture (300 mg/kg) was Oral Administration + 2 Gy Radiation

**3.2 실험방법**

**1) 임신유도 및 관리**

암컷 2마리를 수컷 1마리가 있는 케이지에 넣은 후 5일간 Mating 하였다. 첫 날 오후 7시경에 합사하여 5일째 되는 날 오전 8시 경에 분리하였다. 수정이 확인된 날을 E0 (embronic day 0)으로 하여 모든 Rat이 5일의 어느 때에 임신을 하더라도 Rat의 주기관형성기인 임신 7~12일에 방사선조사가 이루어지도록 설정하였다(Oh and Kim, 2001). 신생쥐는 분만 후 21일 쯤에는 핸들링이 가능하며, 카니발리즘의 위험이 줄어들게 되고, 젖을 땔 시기이다. 따라서 3주령 때 어미로부터 암수 구분하여 분리하여 표준사료와 탈이온수를 자의로 먹

을 수 있도록 하였다.

**2) 방사선 조사**

어미 Rat의 방사선 조사는 동남권원자력의학원의 종양치료에 사용되고 있는 선형가속기(Elekta, Sweden)를 이용하여, Field Size 35\*35 cm<sup>2</sup>으로 조사하였다. 실험동물의 고정은 특수 제작한 30\*30 cm<sup>2</sup> 아크릴case에 5마리씩 넣어 깊이 1.5 cm 지점에 100 % 선량이 되도록 6 MeV X-선으로 2 Gy를 전신 조사하였다. 2 Gy는 자궁 내 사망을 최소화하면서 기형이 많이 나타나는 선량으로 출생 전후의 형태학 및 행동학적 측면에서 많은 연구가 이루어져, 사전 실험논문을 참고하여 설정하였다(Hoffman et al., 1981). 실험동물 어미 Rat의 장기 손상 및 태아의 장애 유발을 막기 위해 마취를 하지 않고 방사선을 조사하였다. 또한 Chamber(Lot. PTW/TM30013, Farmer Type)와 Electrometer(Lot. PTW/T10021-00427, FREIBURG, Germany)를 이용하여 검·교정함으로써 보다 정확한 방사선량의 조사에 기여하였다.

**3) X-ray 촬영**

출생 후 7주령이 된 2세대 Rat의 골 결합 관찰을 위하여 알파산으로 대퇴부 주사 마취 후 X-ray 촬영을 하였다. 마취제는 알파산 10 mg/kg과 럼폰 5 mg/kg을 혼합하여 사용하였다. 용량은 케어사이드(주) 수의사에게 의뢰하여 설정하였다.

**4) 시료 채취**

출산 후 3주령이 된 2세대 Rat의 희생을 통해 채취하였다. 전신마취를 위하여 흡입마취제 2 % Isoflurane을 사용하고 복부를 절개하여 3 cc 주사기를 이용하여 복강 정맥에서 전혈을 채취하였다. 조직은 뇌, 비장, 소장을 적출하여 인산염완충식염수(Phosphate Buffer Saline : PBS)로 세척 하였고, 건조시켜 무게를 측정 후 10 % 포르말린(Formalin)에 고정을 하였다.

**5) 혈구분석**

채취한 혈액은 EDTA-K3이 함유된 채혈전용 튜브를 사용하여 응고를 방지하였고, 쿨터 믹서(Coulter mixer) 위에서 약 15분간 혼합한 후 동물용 혈액분석기(BC-2800VET, MINDRAY, SHENZHEN, China)를 이용하여 분석하였다. 혈액분석은 백혈구, 적혈구, 혈소판, 림프구 총 4종류를 분석하였다. 일반혈액검사(Complete Blood cell Count : CBC)의 정확도를 위하여 각 개체 당 세 번의 일반혈액검사를 시행하여 각 군의 개체의 평균값을 구하였다.

**6) 조직학적 관찰**

조직학적 관찰을 위하여 소장과 뇌를 채취하여 파라핀절편법(Paraffin method)으로 표본을 제작하였다. 채취한 조직은 자

가용해(autolysis)를 방지하기 위하여 10% 포르말린(Formalin)에 고정하고, 에틸알콜(Ethyl alcohol)을 사용하여 조직을 탈수하였다. 이후 자일렌(Xylene)으로 치환하여 파라핀 블록(Paraffin block)을 제작하였다. 박절한 시료는 H&E 염색법(Hematoxylin & Eosin staining)으로 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

### 7) 통계처리

실험결과는 SPSS version 24 (IBM, USA) 통계 프로그램에서 Student's t-test와 ANOVA를 이용하여 분석하였다.

#### ① 기술통계(Descriptive statistics)

위 분석을 실시하여, 테이블로 나타나 있는 실험그룹의 결과 값은 모두 평균 및 표준편차(Mean±S.D.)로 표시하였다.

#### ② 독립표본 T 검정(Independent-sample t-test)

위 검정을 실시하여, 대조군과 실험군의 비교분석을 하였다. 유의수준평가는  $p < 0.05$  이하를 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 분석하였다.

#### ③ 일원배치 분산분석(One way ANOVA)

위 분석을 실시하여, 실험군 간의 비교분석을 하였다. 변수의 사후검정은 Duncan multiple comparison test를 실시하였다. 유의수준 평가는  $p < 0.05$  이하를 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 분석하였다.

## 4. 결과 및 고찰

### 4.1 골 결함 관찰

방사선 피폭 시 조직학적으로 4 Gy에서 뼈모세포(골아세포) 수가 감소하고, 6 Gy 30일 후 연골세포의 일시적 과형성을 보이며, 수 주후 뼈모세포가 출현된다. 소아는 10 Gy 이상에서 성장장애가 일어나며 뼈끝 부위가 감수성이 높다. 뼈는 성장기에 감수성이 높고 특히 태아기에 영향이 크다.

X-ray 촬영을 통해 실험동물의 뼈의 장애유무(발가락 개수, 꼬리기형 등 골격계 이상)를 관찰하였지만, 모든 군에서 눈으로 관별할 정도의 골 결함은 확인되지 않았다(Fig. 1).

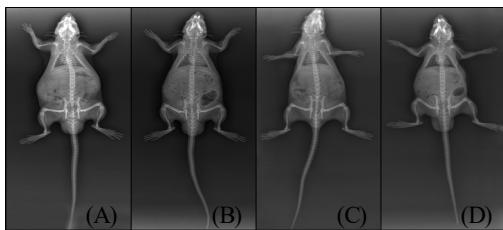


Fig. 1. Observation of bone defect by X-ray. (A): Group 1, (B): Group 2, (C): Group 3, (D): Group 4.

### 4.2 혈구성분의 변화 관찰

방사선 전신조사에 의해 조혈기관이 손상되면 일반적으로 혈액성분과 세포손실이 발생한다. 사전 연구에서 300 R의 X-ray를 조사하였을 때 혈구에 미치는 영향에 대해 백혈구와 적혈구는 조사 후 48시간, 혈소판은 조사 후 12주가 되었을 때 수가 감소한다고 보고되었다(Rugh and Pardo, 1963).

2세대의 암컷 Rat의 혈구분석에서 혼합물 투여 후 방사선 조사군(Group 4)의 혈소판 수치가 방사선조사군(Group 3)에 비해 높은 회복을 보였다(Table 2). 2세대의 수컷 Rat의 혈구분석에서도 혼합물 투여 후 방사선조사군(Group 4)의 혈소판 수치가 방사선조사군(Group 3)에 비해 특히 높게 나타났다(Table 3). 2세대의 전체적인 Rat의 혈구분석에서는 혼합물 투여 후 방사선조사군(Group 4)이 방사선조사군(Group 3)에 비해 백혈구 및 혈소판의 수치가 특히 유의적으로 높게 나타났다. 적혈구의 수치는 네 군 모두 비슷한 수치를 기록하였다(Table 4).

이러한 결과로 보아 엽산과 토코페롤 혼합물의 투여로 인해 방사선 피폭 후 태아의 혈액성분에 대해 보호 작용이 있는 것으로 추정할 수 있다.

Table 2. Result of CBC after Irradiation (Female)

	WBC ( $10^3/\mu\ell$ )	RBC ( $10^6/\mu\ell$ )	Platelet ( $10^3/\mu\ell$ )	Lymph ( $10^3/\mu\ell$ )
Group 1	6.00 ±3.01	6.89 ±0.88	1531.83 ±264.57	4.98 ±2.21
Group 2	4.48 ±1.82	7.34 ±0.39	1348.00 ±92.05	3.50 ±1.27
Group 3	2.95 ±1.20	7.29 ±0.56	1311.75 ±97.75	2.33 ±0.95
Group 4	3.25 ±0.07	7.35 ±0.20	1545.50 ±71.42	2.80 ±0.14

Table 3. Result of CBC after Irradiation (Male)

	WBC ( $10^3/\mu\ell$ )	RBC ( $10^6/\mu\ell$ )	Platelet ( $10^3/\mu\ell$ )	Lymph ( $10^3/\mu\ell$ )
Group 1	7.55 ±2.78	7.07 ±0.40	1465.00 ±347.17	6.66 ±1.53
Group 2	5.35 ±0.07	6.78 ±0.19	1455.50 ±50.20	4.15 ±0.21
Group 3	2.43 ±0.61	6.88 ±0.30	1191.88 ±79.50	1.91 ±0.53
Group 4	4.05 ±0.81	6.82 ±0.45	1551.75 ±219.55	3.33 ±0.56

Table 4. Result of CBC after Irradiation (Total)

	WBC (10 <sup>3</sup> /μℓ)	RBC (10 <sup>6</sup> /μℓ)	Platelet (10 <sup>3</sup> /μℓ)	Lymph (10 <sup>3</sup> /μℓ)
Group 1	6.62 ±2.87	6.99 ±0.66	1509.56 ±273.86	5.94 ±1.97
Group 2	4.77 ±1.48	7.15 ±0.43	1383.83 ±93.11	3.72 ±1.05
Group 3	2.60 ±0.84	7.02 ±0.43	1231.83 ±100.56	2.05 ±0.68
Group 4	3.78 ±0.75	6.99 ±0.45	1549.67 ±173.07	3.15 ±0.51

4.3 장기무게 비교 관찰

실험동물의 체중을 잰 뒤 비장과 뇌를 채취하였다. 대조군(Group 1)은 체중, 비장, 뇌의 무게가 모든 군에서 가장 높게 나타났다. 엽산과 토코페롤 혼합물질 투여군(Group 2)은 대조군에 비해 전체적으로 수치가 약간 낮았지만, 유의적인 차이는 없었다. 방사선조사군(Group 3)은 모든 군에서 가장 낮은 수치를 기록하였다. 특히 체중과 비장에서 유의적으로 낮은 수치를 기록하였다. 물질 투여 후 방사선조사군(Group 4)에서는 방사선조사군(Group 3)에 비해 유의적으로 수치가 높게 나타나 방사선에 대해 회복한 경향을 나타내었다(Table 5).

Table 5. Result of Outside Deformation Check (about 7 weeks)

	body weight(g)	spleen(g)	brain(g)
Group 1	222.5±33.8	0.706±0.146	1.681±0.082
Group 2	194.4±27.9	0.508±0.081	1.644±0.008
Group 3	170.0±10.8	0.441±0.078	1.615±0.115
Group 4	182.0±6.9	0.506±0.055	1.680±0.061

4.4 소장의 조직학적 변화 관찰

소장은 용모의 길이 측정을 통하여 소장염의 발달을 확인하였다. 소장염에서 세포가 성장하여 소장 용모로 발달한다. 소장염의 세포는 분열이 활발하므로 방사선감수성도 매우 높다. 따라서 용모의 길이 측정을 통해 소장염의 세포가 방사선으로부터 영향을 받은 척도로 사용할 수 있다.

대조군(Group 1)과 엽산·토코페롤 혼합물질 투여군(Group 2)은 비슷한 수치의 소장염 길이 나타내었다(Fig 2). 방사선조사군(Group 3)에서 용모의 길이가 크게 감소한 것을 알 수 있었으며, 엽산·토코페롤 혼합물질 투여 후 방사선조사군(Group 4)에서 유의적으로 회복한 것을 확인하였다(Table 6).

용모길이 측정을 통해 엽산·토코페롤 혼합물질이 방사선에 대한 소장염의 손상 억제에 도움을 주는 것을 예상할 수 있다.

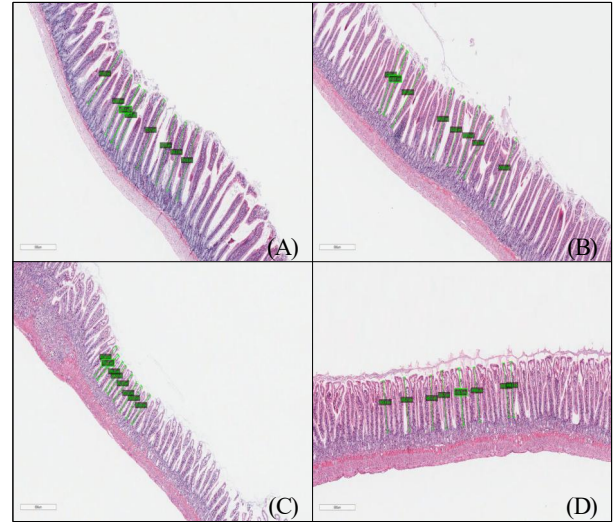


Fig. 2. Villi Length measurement : 4X. (A): Group 1, (B): Group 2, (C): Group 3, (D): Group 4.

Table 6. Result of Villi Length measurement : 4X

	Villi Length(μm)
Group 1	669.10±29.06
Group 2	667.79±22.37
Group 3	425.68±22.47
Group 4	494.61±17.25

4.5 뇌의 조직학적 변화 관찰

Rat의 임신 후 약 7~12일은 기관형성기로써 방사선의 영향으로 기형출생이 높은 시기이다. 임신 중 1 Gy이상의 방사선에 조사되어도 많은 장애가 초래되며, 대뇌피질 형성장애가 생길 수 있다. 따라서 대뇌피질의 두께 측정을 통하여 뇌 발달을 확인하였다. 태아의 발생단계에서는 중추신경세포가 세포분열을 하고 있으므로 방사선감수성이 높다. 대뇌피질의 두께가 얇아질수록 지적·감각·운동 수준이 낮아지는데, 대뇌피질의 두께를 측정함으로써 태아의 뇌가 방사선에 의해 영향을 받았음을 예상할 수 있다.

대뇌피질 부위의 관상 단면부 전범위에서 10x배율 광학현미경으로 관찰하였다(Fig 3). 대조군(Group 1)과 엽산·토코페롤 혼합물질 섭취군(Group 2)에서는 대조군과 비슷한 대뇌피질의 두께를 유지하고 있었다. 방사선조사군(Group 3)의

대뇌피질은 대조군에 비하여 거의 반 정도로 얇아졌으며, 이는 태아 발생단계에서 방사선감수성이 높은 중추신경세포가 영향을 받아 대뇌피질의 두께가 얇아진 것으로 판단된다. 엽산·토코페롤 혼합물 섭취 후 방사선 조사군(Group 4)에서는 방사선조사군(Group 3)에 비해 유의적으로 회복된 것을 확인하였다(Table 7). 이는 엽산과 토코페롤의 혼합물이 임신한 어미 Rat과 태아에게 긍정적인 영향을 나타낸 것으로 판단된다.

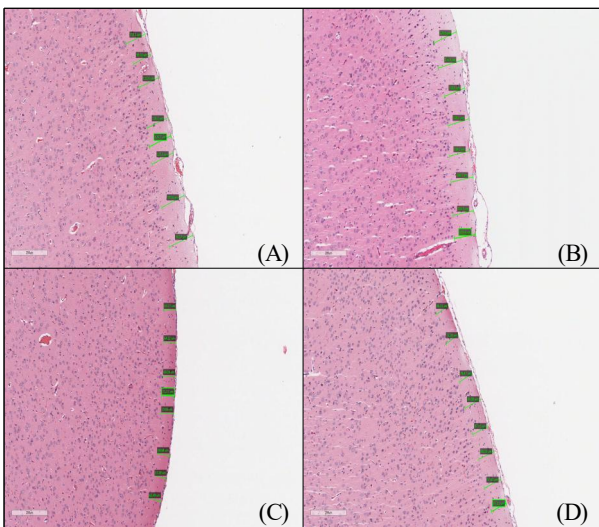


Fig. 3. Cortical thickness measurement : 10X. (A): Group 1, (B): Group 2, (C): Group 3, (D): Group 4.

Table 7. Result of Cortical thickness measurement : 10X

	Cortical thickness( $\mu\text{m}$ )
Group 1	120.49 $\pm$ 12.10
Group 2	122.43 $\pm$ 7.27
Group 3	65.68 $\pm$ 5.02
Group 4	83.05 $\pm$ 10.28

## 5. 결론

본 연구는 향후 잠재적 방사선 사고와 그로 인한 해양환경에서의 방사능 유출 위험에 대비하여 인체 등 각종 생물의 생체에 수반되는 부작용을 줄여줄 수 있는 방사선방호제로서 엽산과 토코페롤의 가능성을 알아보려고 하였다.

생후 8주령의 암컷 Rat에게 엽산 0.6 mg/300 g, 토코페롤 15 mg/300 g을 탈 이온수에 묻혀 첨가하여 1일 1회 14일 동

안 경구 투여하였다. 방사선 조사기간은 기관형성기인 임신 7~12일에 맞추어지게 진행하였다. 방사선 조사는 선형가속기(Elekta, Sweden)를 이용하여, 6 MeV X-ray으로 2 Gy를 전신 조사하였다. 이후 어미 Rat이 출산한 2세대 Rat에서 골 결합, 장기무게, 혈액학적 결과, 조직학적 실험을 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

체중과 비장, 뇌의 무게 측정에서는 방사선조사 비교군(이하 비교군)에서 전체적으로 무게가 낮았으며, 엽산과 토코페롤 혼합물 투여 후 방사선 조사군에서는 비교군에 비해 회복 수치를 보였다. 하지만 체중과 비장, 뇌의 무게에서 유의적인 증가는 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ).

X-ray 관독 결과 눈으로 판단할 수 있는 골 결합은 나타나지 않았으며, X-ray 관독만으로는 뼈바탕질의 상태(뼈의 성분 및 강도 등)를 관독할 수 없었다. 이는 방사선피폭에 대한 유전적인 영향이 확률적이며, 뼈의 방사선감수성이 낮기 때문이라고 사료된다.

혈구 성분 실험에서 백혈구, 림프구, 혈소판에서 비교군에 비해 엽산과 토코페롤 투여 후 방사선 조사군에서 유의한 결과를 보였다( $p < 0.05$ ). 특히 림프구와 혈소판에서 큰 차이를 보였으며, 적혈구는 네 군 모두 비슷한 수치를 보였다.

소장 용모길이의 측정 결과 비교군에서 대조군에 비해 평균적으로 절반의 길이를 나타내었다. 엽산과 토코페롤 혼합물 섭취 후 방사선조사군에서는 대조군 만큼의 수치에는 미치지 못하였지만 유의적인 회복을 보였다( $p < 0.05$ ).

대뇌피질의 두께 측정 결과 대조군과 혼합물 투여군에서 비슷한 두께를 나타내었으나, 비교군에서 가장 낮은 두께의 수치를 나타내었고, 혼합물 투여 후 방사선 조사군이 비교군에 비해 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ).

결론적으로 엽산과 토코페롤 혼합물 투여 후 방사선조사군에서 조혈 면역계(백혈구, 림프구, 혈소판), 대뇌피질, 소장 용모에서 유의한 방호효과가 있었다. 이는 엽산과 토코페롤 혼합물을 임신부가 섭취할 경우 태아의 방사선피폭을 어느 정도 경감시킬 수 있음을 시사한다.

본 연구를 통해 엽산과 토코페롤이 환경방사능 누출 및 원자력시설 관련 재난사고 등에 인체의 손상을 방지하고 유전적 결함을 방지하는데 기여할 가능성을 확인하였다. 이 결과로서 실험동물 뿐만 아니라 해양환경 등 다양한 환경 내 생물에도 적용시킬 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 본 연구만으로는 엽산과 토코페롤 혼합물의 방사선방호제로서의 적합성을 판단하기에는 부족함이 있다. 향후 엽산과 토코페롤 혼합물이 미치는 방사선피폭에 따른 DNA 염기서열의 변화, 단백질 변이 등, 다양한 해양환경 및 해양생물 내 작용기전에 대한 후속적인 연구가 필요하다.

사 사

본 연구논문은 한국해양과학기술원(KIOST)의 기관목적사업 “한반도 주변해의 해양환경/생태계 변동성 분석 및 진단 역량 강화(방사능분야)”(PEA0202)의 연구비 지원을 받아 작성되었습니다.

References

- [1] Chae, E. H., S. J. Kim, H. Y. Lee, and N. S. Chang(2007), Effects of Maternal Folic Acid Nutritional Status on the Expression of Myelin Basic Protein in the Offspring. *The Korean Journal of Nutrition*, Vol. 40, No. 2, pp. 130-137.
- [2] Choi, J. H., I. S. Kim, J. I. Kim, D. W. Kim, C. S. Park, and T. H. Yoon(1993), Effect of  $\alpha$ -Tocopherol Levels Supplemented to Fish Oil Diet on Hemolysis and Lipid Peroxidation in Blood of Fischer 344 Rats, *Korean Journal of Gerontology*, Vol. 3, No. 1, pp. 22-27.
- [3] Fisher, N. S., K. Beaugelin-Seiller, T. G. Hinton, Z. Baumann, D. J. Madigan, and J. Garnier-Laplace(2013), Evaluation of radiation doses and associated risk from the Fukushima nuclear accident to marine biota and human consumers of seafood, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 110, No. 26, pp. 10670-10675.
- [4] Getoff, N.(2009), Vitamin Free Radicals and their Anticancer Action, *In Vivo*, Vol. 23, No. 4, pp. 599-611.
- [5] Hoffman, D. A., R. P. Felten, and W. H. Cyr(1981), Effects of ionizing radiation on the developing embryo and fetus : a review. U.S. Department of Health and Human Service Publication (F.D.A.), pp. 81-8710.
- [6] Hwang, H. J., J. H. Park, Y. S. Um, E. J. Chung, S. Y. Kim, and Y. C. Lee(2002), Effects of Fatty Acids and Vitamin E Supplementation on Antioxidant Systems in the Liver and Serum of the Second Generation Rat, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 31, No. 2, pp. 257-262.
- [7] Ji, T. J. and S. H. Lee(2010), Radiation Damage Mechanism of the Small Intestine's Absorptive Epithelium and Radioprotection Effect after Propolis Abdominal Cavity Injection, *Journal of The Korea Contents Association*, Vol. 10, No. 7, pp. 297-304.
- [8] Jung, I. Y.(2005), Antioxidant activity and radioprotection of two flavonoids from Propolis, *Journal of The Korean Society Food Science and Nutrition*, Vol. 34, No. 2, pp. 162-165.
- [9] Kaeriyama, H., Y. Shimizu, T. Setou, Y. Kumamoto, M. Okazaki, D. Ambe, and T. Ono(2016), Intrusion of Fukushima-derived radiocaesium into subsurface water due to formation of mode waters in the North Pacific, *Scientific Reports* 6, 22010
- [10] Kim, D. Y. and J. C. Chang(1998), Radioprotective Effect of Ginseng Components on Antioxidant Enzymes, Glutathione and Lipid Peroxidation of Liver in  $\gamma$ -Irradiated Mice, *Korean Journal of Ginseng Science*, Vol. 22, No. 1, pp. 1-10.
- [11] Kim, S. H., D. W. Han, Y. W. Jeong, D. Y. Jeong, M. I. Kang, J. T. Lim, T. H. Kim, and Y. S. Lee(1996), The radioprotective effect of Panax ginseng on the hair medullary cell on irradiated mice. *Korean Journal of Ginseng Science*, Vol. 20, No. 2, pp. 149-153.
- [12] Kim, S. H., H. J. Lee, S. R. Kim, J. H. Lee, S. K. Jo, S. Y. Nah, C. H. Son, and D. H. Shin(2001), Effect of Red Ginseng, White Ginseng and Diethyldithiocarbamate in Irradiated Mice. *Journal of Ginseng Research*, Vol. 25, No. 2, pp. 68-73.
- [13] Lee, H. J., J. S. Kim, M. S. Song, N. W. Back, C. J. Moon, S. Y. Ryu, J. S. Jang, S. K. Jo, and S. H. Kim(2007), Evaluation on the Relative Biological Effectiveness of Neutrons with Regard to Prenatal Effects in Mouse. *Laboratory Animal Research*, Vol. 23, No. 3, pp. 271-275.
- [14] Lee, J. H., H. Oh, S. R. Kim, H. J. Lee, T. H. Kim, Y. S. Lee, and S. H. Kim(2001), Morphological study on effect of radiation in developing mouse brain after fetal exposure, *Korea Journal of Veterinary Research*, Vol. 41, No. 3, pp. 395-400.
- [15] Milas, L., N. Hunter, B. O. Reid, and H. D. Thames, Jr (1982), Protective Effects of S-2-(3-Aminopropylamino) ethylphosphorothioic Acid against Radiation Damage of Normal Tissues and a Fibrosarcoma in Mice, *Cancer Research*, Vol. 42, pp. 1888-1897
- [16] Mo, J. M., S. H. Lee, M. N. Park, and Y. S. Lee(2008), Ulcer Healing Effects of Vitamin E on Chronic Gastric Ulcer Induced by Alcohol in Young Adult Rats, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 37, No. 3, pp. 309-316.
- [17] Morris, M. C., D. A. Evans, J. L. Bienias, C. C. Tangney, and R. S. Wilson(2002), Vitamin E and Cognitive Decline in Older Persons, *Arch Neurology*, Vol. 59, No. 7, pp. 1125-1132.
- [18] Neta, R.(1988), Role of cytokines in radioprotection, *Pharmacology & Therapeutics*, Vol. 39, pp. 261-266.
- [19] Oh, H. G. and Y. J. Kim(2001), Effect of X-irradiation on Fetal Development During Pregnancy in the Rats. *Journal of*



Veterinary Clinics, Vol. 18, No. 2, pp. 146-151.

- [20] Park, J. Y., S. M. Lee, J. H. Lee, and Y. R. Seo(2010), Overview of the Potential Roles of Selenium and Other Antioxidants in Radioprotection, Cancer Prevention Research, Vol. 15, No. 1, pp. 19-27.
- [21] Rugh, R. and G. Pardo(1963), Age and Hematological recovery from acute whole-body X-irradiation. Radiation Research, Vol. 20, No. 3 pp. 399-422.
- [22] Satya-Murti, S., L. Howard, G. Krohel, and B. Wolf(1986), The spectrum of neurologic disorder from vitamin E deficiency, Neurology, Vol. 36, No. 7, pp. 917-921.
- [23] Tokyo Electric Power Company Holdings(2024), [https://www.tepco.co.jp/ko/decommission/progress/watertreatment/performance\\_of\\_discharges/index-kr.html](https://www.tepco.co.jp/ko/decommission/progress/watertreatment/performance_of_discharges/index-kr.html)
- [24] Yablokov, A. V., V. B. Nesterenko, and A. V. Nesterenko (2009), Chernobyl: Consequences of the Catastrophe for People and the Environment, Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 1181.
- [25] Yoon, J. Y., Y. J. park, J. H. Noh, S. W. Choi, S. G. Lee, Y. J. Kim, S. A. Yim, D. J. Kim, J. I. Byeon, C. S. Park, B. J. Kim, J. Y. Lee, and J. S. Chae(2010), Marine Environmental Radioactivity Survey, Korea Institute of Nuclear Safety, KINS/ER-092, Vol. 6.

---

Received : 2024. 07. 19.

Revised : 2024. 08. 21.

Accepted : 2024. 08. 29.