

증감약제를 투여한 마우스에 고에너지 방사선 조사 후 혈액학적 변화에 관한 연구

Hematological change in mice injected with radiosensitizer and irradiated with high-dose radiation

정묘영, 지연상, 동경래
광주보건대학 방사선과

Jung Myo-Young, Ji Yeon-Sang, Dong Kyung-Rae
Department of Radiological Technology,
Gwangju Health College University

요약

최근 노인인구의 증가와 평균수명의 연장으로 암 발생빈도가 증가 추세에 있고, 암환자를 위한 방사선치료가 증가되면서 장해의 인식과 중요성이 널리 알려져 있다. 본 연구에서는 미량의 선량부터 고 선량의 방사선을 마우스에 조사하여 급성장해로 나타나는 혈액세포의 변화를 비교 실험함으로써 종양 치료 환자들의 조혈기계 장해를 알 수 있었다. 따라서 증감제 투여는 말초혈액 성분의 많은 장해를 초래할 수 있으므로 종양환자 치료 시 조혈기계 장해의 위험성을 고려해야 될 것으로 사료되며, 합리적인 방사선 치료가 이루어질 것으로 판단된다.

Abstract

The current population of elderly is increasing and the with an extended average lifespan, the frequency of cancerous occurrences have also increased, with these increases and the increase in radiotherapy for cancer patients, recognitions of harm and importance have become known. This article was known tumor treatment of patients with hematopoietic disorder by doing a comparative study on the changes in blood cells caused by the acute effects of trace dose to high dose of radiation exposed to mice. According to the sensitizer injection may give rise to harm to the components of peripheral blood. This material needs to be considered when for treating tumor patients and the risks of hematopoietic harm and believe that radiation therapy will be reasonable.

I. 서론

방사선은 생체를 구성하는 물질과 상호작용을 일으키며, 그 에너지를 물질에 줌으로써 물질을 구성하는 분자 및 원자에 전리 및 여기를 일으키므로, 물리, 화학, 생물학적 작용이 일어나 화학물질의 조성변화가 생겨 그로인한 혈액세포 및 일반세포의 기능 장애를 유발한다. 장애의 정도에 따라 그 세포의 증식이 저지 되거나, 사멸 등이 일어나며 나아가 조직이 파괴된다. 이러한 작용을 이용하여 각종 종양을 치료할 목적으로 방사선

치료학(Radiation Therapeutics: RT)이 정립되면서 최근 노인인구의 증가와 평균수명의 연장으로 암 발생빈도가 급증함에도 불구하고, 우수한 성능의 치료 장비의 보급과 치료 기술의 발전으로 종양 환자에 대한 치료 효과는 증가되는 추세이다. 그러나 방사선을 이용한 치료는 종양조직에만 영향을 미치는 것이 아니라 정상조직에 대해서도 영향을 미치므로 이에 따른 부작용을 무시할 수 없다[1]. 방사선 치료 및 진단에 의한 피폭으로 인하여 발생하는 방사선 장해는 크게 2종류로 분류하는데, 저 선량의 방사선에 장기간 피폭 되어 세포에 준치사효과가 나타나는 만성장해(late effect)와 고 선량

의 방사선에 피폭 되어 세포에 치사효과가 나타나는 급성장해(acute effect)가 있다[2]. 특히 급성장해는 방사선에 피폭된 후 장애가 나타날 때 까지 잠복기에 대해서는 방사선 피폭 후 수 시간에서 수주일 내에 혈액학적 장애가 발현 한다고 한다.

이에 본 연구는 고 에너지의 방사선 치료를 받은 환자의 혈액 검사를 통하여 방사선 급성장해 유발을 미리 알 수 있도록 마우스를 이용하여 선량별로 실험군을 나누어 선형가속기(LINAC)를 이용하여 각 1회 마우스에 전신 조사한 후 혈액에 미치는 영향을 병리학적 검사를 통해 혈액변화를 평가하고, 방사선 치료효과를 증가시키기 위하여 방사선 증감제(radiosensitizer)를 사용하는데, 증감제(sensitizer)사용이 효과가 있는지 증감제 투여 군을 두어 혈액검사를 통해 비투여군과 비교하여 증감제 약리반응에 대해 알아보기 위하여 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

본 연구에 사용한 실험동물은 ICR계 4주령의 마우스 암컷 60마리를 (주)오리엔트바이오로 부터 구입하여 7 일간의 순화기간을 거쳐 건강한 마우스만을 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 마우스는 질병이 없는 상태로 케이지당 4마리씩 사육하였고, 먹이와 물은 자유섭취 시켰고 사육실의 온도는 22°C, 습도는 60%, 또한 공기 순환이 잘되는 사육장에서(C대학교병원백신센터) 사육하였다.

2. 실험군의 처리 및 방사선 조사

총 60마리 ICR계 마우스를 5마리씩 12군으로 증감제 투여군(A0~A5)과 비투여군(B0~B5)으로 나누어 각각 방사선량 25cGy, 50cGy, 100cGy, 200cGy, 400cGy까지 전신조사한 후 혈액검사를 실시하여 변화를 알아보았다(Table 1).

방사선 증감 의약품은 5-fluorouracil(Furtulon, Roche Korea)을 식염수에 희석하여 마우스에 13.3 μ g/g를 1일 2회 분할하여 복강주사로 투여 하였다. 또한 방

사선량조사에는 300cGy/min의 선량률로 LINAC(Varian 21 EX, 6MV)이 사용되었고, 깊이 2.5cm, 조사야 15cm \times 15cm, SSD 75cm, SAD법을 이용하여 마우스에 마취를 한 뒤 마우스 위아래 각 1cm씩 볼루스(bolus) 2cm을 덮고 대향 2분 조사로 전신조사를 실시하였다.

Table 1. Irradiated radiation dose

(unit : cGy)

Radiation dose	Sensitizer non-injection group(A)	Sensitizer injection group(B)
No irradiation	A0	B0
25	A1	B1
50	A2	B2
100	A3	B3
200	A4	B4
400	A5	B5

3. 혈액검사

각각 주어진 선량 값에 의하여 전신 조사된 마우스에서, 조사 후 30분 이내에 마취를 시키지 않고 심장에서 직접 채혈하여 얻은 전혈 1cc를 혈구 자동 분석기(ADVIA-120, Bayer)를 이용 CBC Test를 하여 백혈구(Leukocyte), 적혈구(Erythrocyte), 적혈구의 평균 혈액색소량(Mean Corpuscular Hemoglobin: MCH), 혈소판(Platelet: PLT), 림프구(Lymphocyte)를 측정하였다.

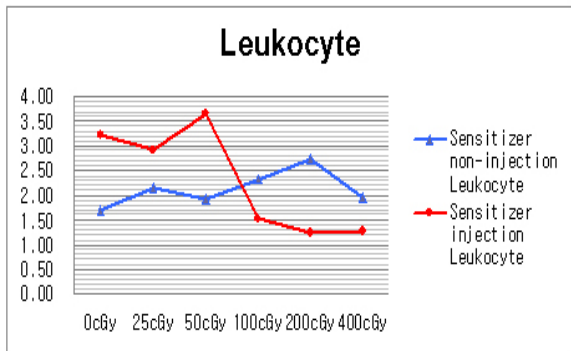
4. 통계처리

CBC검사를 통하여 얻은 데이터를 SPSS Ver. 15.1 프로그램으로 일원배치분산분석(One-way ANOVA)과 t-test를 실시하였으며 사후검정방법으로 Scheffe를 적용하여 p값이 0.05미만일 때 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

III. 결과

1. 백혈구(Leukocyte) 변화

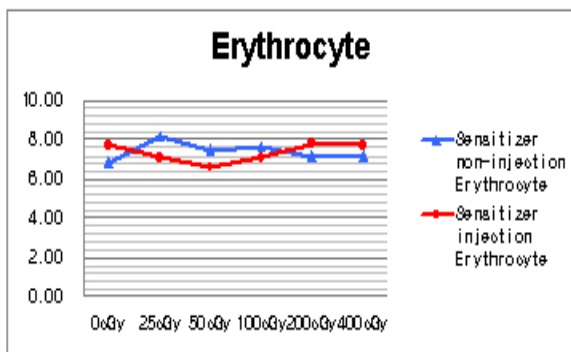
백혈구는 증감약제에 대한 영향으로 백혈구 수치가 Fig 1에서 나타난 것처럼 1.8배 증가하였고, 증감제 투여한 마우스는 대조군보다 50cGy에서 약 2배 증가하다가 선량이 100cGy에서는 약 2.4배 급속하게 감소를 보였으며, 200cGy이상에서는 감소하는 수치가 완만한 추세를 보였다. 증감제 비투여군의 마우스에서는 선량 200cGy까지는 백혈구 수가 약간씩 증가추세를 보이다가 200cGy이상에서는 서서히 감소로 나타났다가 ($p < 0.001$).



▶▶ Fig 1. Change of Leukocyte

2. 적혈구(Erythrocyte) 변화

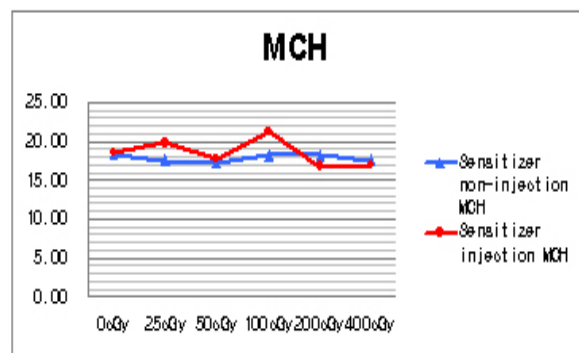
적혈구는 증감약제에 대한 영향은 나타나지 않았고, 증감제 투여군의 마우스는 25cGy~100cGy사이에서 감소추세를 보이다가 100cGy이상에서 증가추세로 나타났다. 증감제 비투여군의 마우스에서는 방사선량 25cGy에서 증가추세로 나타났으며 50cGy이상에서는 적혈구 수가 감소추세로 나타났다. 적혈구는 증감제 투여군과 비투여군과의 방사선 선량에 큰 변화를 나타내지 않았다 (Fig. 2)($p < 0.001$).



▶▶ Fig 2. Change of Erythrocyte

3. 적혈구의 평균 혈색소량(MCH) 변화

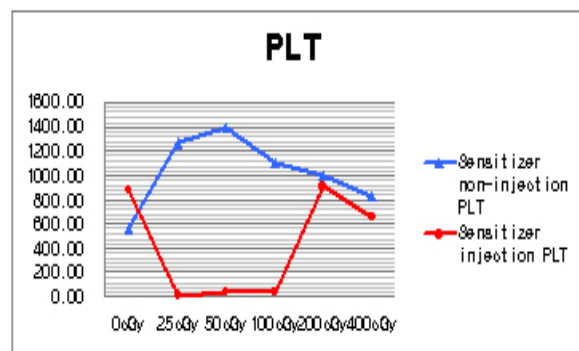
적혈구의 평균혈색소량은 증감약제에 대한 투여군과 대조군의 상관관계는 가장 낮게 나타났고, 증감제 투여군 마우스의 25cGy~100cGy에서 약간의 증가추세를 보이다가 200cGy이상에서는 감소로 나타났다. 증감제 비투여군은 방사선량의 변화에 큰 영향을 나타내지 못하였다. 적혈구 혈색소량의 변화는 증감제와 방사선량의 변화에 크게 반응하지 않은 것을 알 수 있다(Fig. 3)($p < 0.001$).



▶▶ Fig 3. Change of MCH

4. 혈소판(Platelet) 변화

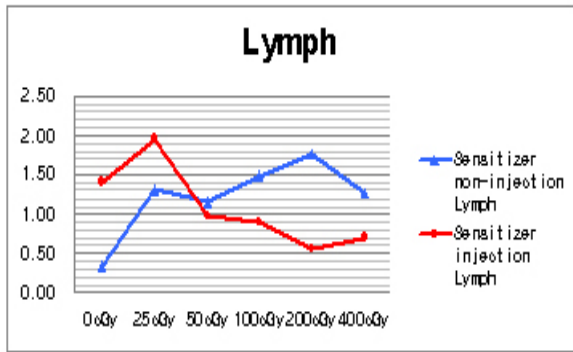
혈소판은 증감제 비투여군에서는 50cGy까지는 증가하다가 100cGy이상에서는 감소로 나타났고, 증감제 투여군에서는 100cGy까지 급격한 감소를 보이다가 200cGy에서는 급격한 상승추세로 나타났다. 방사선 증감약제가 혈소판에 비교적 큰 영향을 주었고, 낮은 방사선량에 민감한 반응을 보였다. 증감제 투여군과 비투여군과의 혈소판에 미치는 영향은 100cGy이하에서 큰 변화를 나타내고 있음을 알 수 있다(Fig. 4)($p < 0.001$).



▶▶ Fig 4. Change of PLT

5. 림프구(Lymphocyte) 변화

림프구는 증감제 비투여군에서 200cGy까지 점진적 증가추세를 보이다가 400cGy에서 감소로 나타났고, 투여군에서는 25cGy에서 초기 증가추세를 보이다가 50cGy이상 선량에서 급격한 감소현상이 나타났다. 림프구는 증감약제에 대한 영향을 받고 있음을 알 수 있었고 방사선량에 큰 변화를 나타내고 있다. 증감제 비투여군에서는 선량의 증가에 따라 방사선 저항성을 나타내고 있으나 고선량으로 갈수록 감소로 나타남을 알 수 있다(Fig. 5)(p<0.001).



▶▶ Fig 5. Change of Lymphocyte

IV. 고찰

조혈계가 방사선에 의해 강하게 영향력을 받는다는 사실은 1903년 Heinecke에 의하여 인체조직 중 조혈조직이 생식선과 더불어 가장 감수성(sensitivity)이 높고 방사선 조사에 의한 백혈구의 감소현상에 대하여 보고하였다. 백혈병 발생에 대해서는 일본의 원폭 피폭 생존자나 X선 치료를 받은 강직성 척추염 환자의 예가 보고되어 있다. 일반적으로 말초혈액계의 변화는 1차적으로 조혈계의 장애에 의해서 일어나며 2차적으로는 조혈계에 관여하는 신경체액성 조절의 변화에 의해서 일어난다. 일반적으로 말초혈액 중의 림프구를 제거하면 방사선에 대한 저항성이 생기게 된다. 따라서 말초혈액 중의 혈구계의 변화는 장애를 받은 골수에서 공급의 감소와 각각의 혈구의 수명에 의해서 좌우된다. 백혈구에서 림프구는 다른 혈구와 달리 말초 림프구가 직접 방사선에 의해 장애를 받으며, 방사선 조사 1시간 이내에

감소되며 그 정도는 조사선량과 상호 비례관계에 있다. 사람에서는 0.25Gy를 조사하면 15분경에 일시적으로 감소를 일으키고, 3Gy를 전신 조사하면 회복에는 2개월 이상이 소요된다. 림프구의 감소가 현저한 것은 소림프구의 방사선 감수성이 매우 높기 때문에 1.5Gy 조사로 50%는 간기사(interphase death)에 의해서 사망한다. 그리고 적혈구는 저항성이 비교적 높고 수명이 길기 때문에 주로 골수에서의 공급 감소가 일어난다. 따라서 2주 후에 더욱 더 감소된다. 생체 내에서는 치사선량을 주더라도 용혈은 일어나지 않지만, 생체 외에서는 조사 후에 일시적으로 위축되고 긴장되며 용혈에 이른다. 또한 적혈구막을 통과한 Na는 8.9Gy 조사에 의해서 45% 정도 저하된다. 생체 내에서는 0.5Gy 조사에 의해서 쥐의 적혈구 내에 ⁵⁹Fe의 흡수는 저하되고 2일 후에 최소가 된다. 6Gy 조사 시 헤모글로빈 합성이 억제된다. 생체 내 조사에서는 모세관벽의 장애로 인하여 적혈구의 유출이 일어난다. 혈소판은 백혈구보다는 방사선에 저항적인 면이 있으며 혈소판의 수가 가장 적어지는 시기는 조사 후 2~3주 사이가 된다. 이렇게 되면 출혈이 일어나기 쉬워지고 이 시기의 특징인 혈액의 응고가 어려워지게 된다. 혈소판의 회복은 과립백혈구에 비해서 좀 늦어진다. 혈소판의 수가 현저히 감소되는 선량은 0.5Gy 이상의 방사선량이다[3][4].

V. 결론

방사선 급성 장애의 가장 빠른 혈액장애를 알아보기 위해 실험용 마우스에 증감제 투여군과 비투여군으로 2개 그룹을 방사선 조사 후 혈액성분을 병리학적으로 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

첫째, 백혈구는 증감약품에 1.8배의 수치의 증가를 보였고, 방사선 선량에 대해 약 2배 정도의 감소를 나타냈다.

둘째, 적혈구는 증감제 투여군과 비투여군의 선량변화에 큰 영향을 미치지 않았으나, 50cGy의 선량에서 감소추세로 나타났다.

셋째, 적혈구의 평균 혈색소량은 증감제 투여군과 비투여군과의 상관관계가 가장 낮게 나타났으며, 증감제 투여군의 저선량보다 고선량에서 감소로 나타났다.

넷째, 혈소판은 증감제 투여군에서 1Gy이상의 선량에

서 감소로 나타났으나, 비투여군에서는 고선량에서 혈소판수가 증가로 나타났다.

다섯째, 림프에서는 증감제 비투여군의 경우 고선량에서 감소로 나타났으나, 증감제 투여군에서는 저선량에서부터 백혈구의 급격한 감소로 나타났다.

이와 같은 결과를 종합해 볼 때 백혈구와 림프는 방사선 증감약제 자체에 대한 큰 영향을 받으며, 방사선 선량의 증가와 더불어 수치의 급격한 감소를 가져왔다. 그러므로 종양치료를 하기 위해 방사선을 조사할 때 말초혈액 성분 중 백혈구와 림프의 장애와 면역기능의 저하를 초래할 수 있으므로 조절기계 장애의 위험성을 고려해서 방사선 조사가 필요하다고 사료된다.

[8] 진계환, 민수영, 이상복, 이삼열, 박종배, 이준행 “저선량 X-선 조사가 쥐의 정자에 미치는 생물학적 효과”, *Journal of Radiation Protection*, Vol.32, No.4, pp.184~189, 2007.

[9] 양동식, 성현제, 윤유식 “KH-19의 5-flurouracil 부작용 억제 효력 및 기전 연구”, *국의학연구원은 문집*, 제9권, 제1호, pp.137~143, 2003.

[10] 조범신, 서홍석, 함창곡, 조석신 “고선량 방사선 피폭이 생체에 미치는 급성장해에 관한 실험 연구”, *한양의대학회지*, 제8권, pp.73~86, 1988.

■ 참고 문헌 ■

- [1] 이준일 “방사선을 일회 부분조사 한 흰쥐의 간 담도계 장애”, *의학물리*, 제4권, 제2호, pp. 69~76, 1993.
- [2] 박영환, 유숙현, 김영호, 박진홍, 정호용 “방사선 피폭으로 인한 만성효과(Late Effect of Radiation)”, *대한방사선치료기술학회지*, 제4권, 제1호, pp.63~70, 1990.
- [3] 고인호, 박영순, 박인국, 유병규, 이덕규, 지연상, *방사선생물학(Radiation Biology)*, 청구문화사, pp.57~166, 2003.
- [4] 강세식, 고인호, 김성환, 김우열, 윤철호, 은성종, 이송재, 이정옥, 조정근, 지연상, 최중운, *방사선 치료학(Radiation Therapeutics)*, 청구문화사, pp.13:228, 2007.
- [5] 지태정 “전신 X-선 조사 후 마우스 대동맥 혈구에서 SEM을 이용한 프로폴리스의 방사선 방어효과 연구”, *방사선기술과학*, 제31권, 제1호, pp.49~54, 2008.
- [6] 이훈재, 이상복 “핵의학 종사자의 방사선 피폭에 따른 생체신호 변화 분석”, *Journal of Radiation Protection*, Vol.32, No.1, pp.27~34, 2007.
- [7] 윤철호, 최중운, 윤석환 “방사선 조사선량에 따른 생쥐 난소의 형태학적 변화”, *Journal of Radiation Protection*, Vol.32, No.4, pp.140~156, 2007.