

마우스복강내 투여한 방사성스트론튬의 체외배설 촉진제로서 카이토산의 효과에 관한 연구

전남대학교병원 핵의학과

김 지 열 · 김 광 윤 · 범 회 승

삼천리제약 연구실

김 회 경

= Abstract =

Effect of Chitosan on the Elimination of Intraperitoneally Administered Radiostrontium (Sr-85)

Ji-Yeul Kim, Ph.D., Kwang-Yoon Kim, M.S. and Hee-Seung Bom, M.D.

Department of Nuclear Medicine, Chonnam University Hospital, Kwangju, Korea

Hee-Kyung Kim, M.S.

Research Institute of Samchulli Pharmaceutical

Chitosan is a natural chelating agent. It is derived from chitin which is a cellulose-like biopolymer distributed widely in nature, especially in shellfish, insects, fungi, and yeast. The purpose of the present study is to investigate whether orally given water soluble chitosan can eliminate intraperitoneally injected radiostrontium (Sr-85) in mice.

Water soluble chitosan and usual food was mixed as 10:90 by weight. The mixed food were fed for 60 (group 1) or 90 days (group 2). No chitosan was given to the control group. Each group consists of 5 mice. Sr-85 (0.2 μ Ci) was intraperitoneally injected after completion of prefeeding of usual or mixed food. The same food was given for more 5 days. The animals were sacrificed at the 6th day. Isolated spines, skulls, femurs, tibias, teeth, and tails were counted by a gamma counter.

The retention of Sr-85 in bones was significantly lower in the prefeeding groups ($p < 0.01$). It was lowest in the 90 day prefeeding group. Therefore, prefeeding of water-soluble chitosan was effective on the removal of intraperitoneally injected radiostrontium.

Key Words: Radiostrontium, Chitosan, Intraperitoneal injection

서 론

1986년 이후 계속되는 구소련의 핵발전사고로 인해 방사성물질이 환경중으로 계속 방출되고 있어, 환경 중

본 연구는 1992년도 학술진흥재단 지방대육성연구비에 의해 지원 되었음.

의 핵물질제거는 심각한 사회적인 문제로 대두되고 있다. 스트론튬(stable strontium)은 일반적으로 독성이 낮은 원소이다¹⁻³⁾. 반면에, 방사성스트론튬(radiostrontium, Sr-90)은 원자력발전사고, 핵실험 등의 핵사고시 Cs-137, Ce-144, I-131, H-3등의 방사핵종과 더불어 환경으로 유출되는데, 각종 오염경로를 통해⁴⁾ 인체 내로 유입되면, 흡수량의 90% 이상이 골조직중의 하이

드록시아파타이트 구조 중에 침착되며, 그 생물학적 특징으로 인하여 체내에 장기간 존재하면서(반감기 : 약 28년) 지속적으로 뼈와 골수세포의 유전자에 작용하여 암, 백혈구감소증, 백혈병 등을 유발시킬 수 있는 독성이 강한 방사독소(radiotoxin)로 평가되고 있다⁵⁾. 그동안 방사선장애의 예방약제를 비롯하여 방사성동위원소의 체내오염에 대한 배설촉진제, 장애의 치료를 위한 치료제, 국소부위의 외과적 절제술 및 조절기능의 회복을 위한 수혈 및 골수이식에 관하여 꾸준히 연구하여왔으며⁶⁻⁸⁾, DTPA 등의 화학약제가 동물실험결과 유효한 치료약제로 평가 되었지만⁹⁾, 이들 화학적 착화제는 자체가 지닌 독성으로 인하여 핵사고시 실제로 임상에 적용하기에는 연구단계에 있으므로 안전성이 높은 무독성의 천연착화제의 개발이 강력하게 요구되고 있다. 최근 버섯 등의 균류와 새우, 게 등의 갑각류의 유기 골격물질이며, 잠존적으로 이용가능한 천연자원으로 평가되고 있는 카이틴/카이토산에 대한 연구가 일본등지에서 활발하게 이루어지고 있다. 자연계에 유일하게 분포하는 염기성다당류(homopolymer)인 카이틴/카이토산은 무독성¹⁰⁾이며, 생물의 합성과 분해에 관여하며 환경오염을 초래하지 않는 천연의 고분자로서 여러분야에서 연구가 기대되고 있다. 또한, 카이토산은 금속이온 흡착능을 가지고 있으며, 안전성이 높은 천연의 착화제로서 중금속 이온의 제거제 및 중금속의 체내 흡수 억제제로서의 사용이 기대되고 있다. 본 연구에서 Nishimura등¹¹⁾이 방사성스트론튬의 천연착화제로 보고한 바와 같이 생체 내에서 방사성스트론튬의 흡착력이 강할 것으로 생각되는 카이토산 중 수용성카이토산의 방사성스트론튬 흡수 억제제로서의 효과를 연구하였다.

대상 및 방법

재료로는 삼육축산에서 생산, 공급하고 있는 11주년의 ICR계의 웅성 마우스(체중 25~30 g)를 사용하였다. 마우스는 23±2°C로 유지된 사육실에서 폴리카보네이트로 제작된 사육장(40×25×17 cm)에 10마리씩을 넣고 일반마우스용 사료와 카이토산처리 사료를 공급하고, 자유급수로 사육하여 생후 11주되는 웅성마우스를 택하여 실험군으로 설정하였다. 실험군은 (1) Sr-85만을 처리한 대조군, (2)카이토산을 60일간 일반 동물용식에 혼합, 섭취토록한 후 Sr-85를 처리한 60일 처리군, (3)카

이토산을 90일간 일반식에 혼합, 섭취토록한 후 Sr-85를 처리한 90일 처리군 등 총 3개의 실험군을 설정하였고, 마우스 5 개체씩을 1개 실험군으로 하였다. 방사성 스트론튬(⁸⁵SrCl₂, 이하 Sr-85)은 Amersham (England) 제품(비방사능 : 430 MBq/mg)을 구입하여 사용하였다. Sr-85는 생리식염수 중에서 15 KBq/mg이 되게 희석한후, 이 용액의 0.2 ml를 각 마우스에 투여하였다. 수용성카이토산(Stylax, 일본태양화학)은 보통식에 전체의 10%가 되게 섞은 후 분말상태로 공급하였다. 60일, 90일이 지난 후 1 ml 주사기를 이용하여 복강에 투여한 후, 도살하여 6개 골조직(척추, 두개골, 대퇴골, 경골, 치아, 꼬리뼈) 중의 방사능을 측정하였다. 방사성 스트론튬 투여후 충분한 흡착 시간을 고려하여 도살은 투여 5일 후에 실시하였다. 방사능은 감마카운터(Hewlett-Packard, Cobraq 5005, USA)를 이용하여 CPM을 측정하였고, 방사성스트론튬의 감마에너지(515 KeV)와 방출비율(98%)을 고려하여 450~600 KeV 에너지 범위내에서 측정하였다. 측정시 측정시간 경과에 따른 물리적 감소량은 시간별 감소율에 따라 보정하나, 생체조직에 의한 방사선의 흡수 및 방사선피폭에 따른 체내대사의 변화등 생물학적 변형요인은 무시하며, 다만 대조군과 실험군은 동일조건으로 측정함으로써 상대적측정치만을 이용하였으며, Sr-85를 단독투여한 실험군을 대조군으로 하였다. 카이토산과 Sr-85를 투여한 후에는 음용수와 사료를 자유롭게 섭취토록하였다.

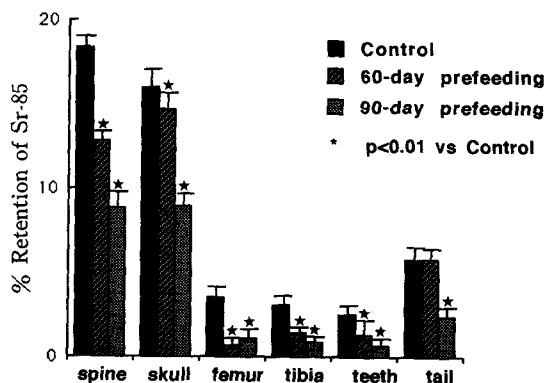


Fig. 1. The effect of the chitosan-feeding on the removal of intraperitoneally injected Sr-85. The retention was determined at the 6th day. Bars indicate SD. An astrisk indicates significantly different from control.

Table 1. Bone Retention (% of mean \pm SD) of Sr-85 in Control, 60-Day, 90-Day Prefeeding Groups of Mice

Bone	n	Control	Pre-feeding days	
			60d #	90d ##
Spine	5	18.32 \pm 0.52	12.80 \pm 0.64*	8.80 \pm 0.96**
Skull	5	16.02 \pm 0.84	14.68 \pm 0.80*	8.90 \pm 0.35**
Femur	5	3.50 \pm 0.60	0.70 \pm 0.10*	1.10 \pm 0.42*
Tibia	5	3.00 \pm 0.51	1.40 \pm 0.16*	0.90 \pm 0.27**
Teeth	5	2.50 \pm 0.23	1.32 \pm 0.76*	0.60 \pm 0.20**
Tail	5	5.80 \pm 0.23	5.73 \pm 0.36	2.40 \pm 0.24**

60-day prefeeding of 10% of water soluble chitosan.

90-day prefeeding of 10% of water soluble chitosan.

* p < 0.01 as compared with control.

** p < 0.01 as compared with control, and p < 0.01 as compared with 60d group.

결 과

고 찰

Fig. 1과 Table 1은 수용성카이토산을 각각 다른 기간 동안 prefeeding 시킨 후 나타난 방사성스트론튬의 골조직잔존율을 나타낸 것이다. 대조군은 카이토산을 투여하지 않고 Sr-85만을 복강주사한 경우이다. 각 수치는 5개체씩의 평균을 나타낸 것이고, 표준편차도 함께 표시하였다. 척추의 경우 대조군과 비교시 60일 처리군은 1.4배, 90일 처리군은 2.0배의 흡착억제효과를 나타냈다. 두개골은 대조군에 비해 60일군은 1.0배, 90일 처리군은 1.7배의 흡착억제 효과를 나타냈다. 대퇴골은 대조군에 비해 60일군과 90일군이 각각 5.0배, 3.18배로 유의한 차이를 나타냈으나, 60일군과 90일군의 카이토산 처리군간에는 차이가 없었다. 경골은 대조군에 비해 60일군은 2.14배, 90일군은 3.3배의 효과를, 실험군간에는 1.5배로 유의한 차이를 나타내었다. 치아는 대조군에 비해 60일군은 1.9배, 90일군은 4.1배의 효과를 나타냈으며, 실험군간에도 2.1배로 역시 유의한 차이를 나타내었다. 꼬리뼈는 대조군에 비해 60일군은 2.3배, 90일군은 2.4배였으며, 실험군간에도 2.3배의 차이가 있었다. 전반적으로 카이토산을 60일간 전처리한 실험군과 90일간 전처리한 실험군은 대조군에 비해 유의하게 그 체내흡수율이 저하되었으며(p<0.01), 대퇴골을 제외하고는 60일군과 90일군간에도 90일군의 체내 축적율이 유의하게 낮게 나타났다(p<0.01).

갑각류 등의 외골격에 존재하는 카이틴과 그 화학적 분리 유도체인 카이토산을 천연착화제로 이용하는 연구들이 수행되어왔다. Muzzalli등¹²⁾은 in vitro 상태에서 카이토산이 핵사고 및 낙진중에 함유된 방사핵종인 Cs-137, Ce-144, Ru-106, Zr-95 등에 대한 흡착능을 갖고 있음을 보고하여 카이틴/카이토산이 방사성동위원소의 흡착에 관한 가능성을 제시하였다. Sagaguchi등¹³⁾ 또한 카이틴/카이토산의 우라늄흡착에 관해 연구한 결과 역시 in vitro의 조건하에서 약 80% 가량의 흡착함을 보고하였다. 이 실험을 근거로 실시된 Nishimura등¹⁴⁾의 연구는 이러한 방사성동위원소 흡착능을 in vivo에 적용하여 생체내에서 카이토산의 방사성물질 흡착효과를 관찰하였다. Nishimura등¹²⁾은 쥐에서 아세트산에 용해된 불용성카이토산이 쥐의 위장내에서 방사성스트론튬과 반응하고 방사성스트론튬의 표적조직인 골조직으로의 침착을 억제하는 것으로 보고하였다. 이 결과는 불용성 다당류인 카이토산이 구강을 통해 체내로 유입될 때 체내에 흡수되어 혈액을 통해 표적기관으로 이행하는 대사 경로를 거치지 못하고 소화관을 통해 분비되는 대사 경로에 대한 실험이었다. 이어진 김등¹⁵⁾의 연구는 소화관에서 흡수될 수 있는 수용성카이토산(분자량 3,000~30,000)을 방사성스트론튬 오염후 연속 5일간 경구투여하여 골조직에 축적된 방사성스트론튬을 제거할 수 있

는가에 대한 실험을 시도하였다. 즉, 소화관의 벽에 흡수되어 혈중으로 이행하여 표적기관인 골조직에 방사성 스트론튬이 도달한다 할지라도 이에 대해 수용성카이토산이 방사성스트론튬의 방사성스트론튬의 대사에 작용하는가에 대한 가능성을 연구한 것이다. 그 결과 5배 가량의 제거효과가 있음을 보고하였다. 이 결과는 흡수된 방사성스트론튬은 일단 골조직에 침착되면 체외로 배출되는 것은 곤란하다고 생각되고 있지만, 착화제를 연속 투여할 경우에는 뇨로의 배설대사회전을 증가시켜 방사성스트론튬의 체외배출을 증가시킬 가능성이 있음을 시사하였다. 또한 김등¹⁶⁾은 마우스에서도 김등¹⁵⁾과 동일한 결과를 가져오는가를 실험한 결과 유의한 체내축적 저해효과가 있음을 보고하였다. 이와 같이 카이토산을 착화제로 이루어진 기존의 연구는 (1) 체내 흡수력이 뛰어난 것으로 생각되는 수용성카이토산이 골조직에 침착되어있거나 침착되기전 혈중에 이행하는 방사성스트론튬을 흡착, 체외로 배출시키는데 유효하며, (2) 불용성 카이토산 또한 위장내에서 강산에 용해된 상태로 존재하면서 유입되는 방사성스트론튬과 착화합물을 형성하여 체외로 배출시키는데 유의한 효과를 얻을 수 있다는 사실을 발견할 수 있다. 하지만, 유효방사성스트론튬 투여 기간을 얻기 위해서는 보다 장기간의 postfeeding 실험을 수행할 필요가 있다. 또한, 대부분 구강을 통하여 오염되는 경로만을 연구하였고, 상처 등을 통해 혈액 중으로 바로 오염되는 경우 카이토산을 이용한 방사성독소 제거에 관한 연구는 아직 수행되지 않았다. 본 연구에서 시도한 것은 복강을 통해 혈중으로 투입된 방사성스트론튬을 수용성카이토산이 어느정도 제거할 수 있는 가에 대한 효과를 관찰한 것이다. Fig. 1과 Table 1은 prefeeding 일시를 연장함에 따라 방사성스트론튬의 체외배출 능력이 향상되는 것을 나타내었다. 이 결과는 카이토산의 처리방법면에서는 다름이 있지만, 착화합물을 형성, 체외로 배출시킨다는데 대해서는 김등¹⁵⁾과 김등¹⁶⁾의 결과와 일치하였다. 예비실험결과 수용성카이토산이 마우스의 전조직에 고르게 확산될 수 있음이 관찰되었는데 수용성카이토산이 과연 체내에 다량이 존재함에 비례하여 유입되는 방사성물질제거능이 증가할 수 있는가에 대한 연구는 알려지지 않았다. 본 연구의 결과는 전처리 기간을 증가시킬수록 상대적으로 흡착, 제거율이 증가되었는데 이러한 결과가 카이토산의 양적인 배치와 관련성이 있는지는 계속 진행되어야 할 과제이다. 전처리 기

간의 증가에 따른 방사성스트론튬의 체외배출의 증가는 대퇴골을 제외한 골조직의 각 부위 즉, 척추, 두개골, 경골, 치아, 꼬리뼈 등에서도 유사한 흡착제거율을 나타내었다. 그러나 김등¹⁵⁾의 보고에 의하면 수용성카이토산을 구강을 통해 주입했을 때, 구강을 통해 오염된 방사성스트론튬의 제거율은 5배까지 증가하였는데 본 연구 결과는 약 2배 정도의 효과를 가져온 것으로 보아 피부의 상처나 복강을 통하여 오염된 방사성스트론튬을 제거하는 것은 구강오염시 소화관내에서의 흡착, 제거에 비해 상대적으로 어려운 것으로 사료된다. 카이틴으로부터 분리, 유도되는 카이토산은 종마다 그 기능과 용도가 다르긴 하지만 천연의 착화제로서 그 독성이 낮아 방사성물질의 배출제로서 기대된다. 방사성스트론튬은 체내에서 Ca^{++} 과 화학적 성질이 유사한 방사성동위원소로서 체내수송기전 역시 유사하고, 순환혈중에 존재하던 방사성스트론튬은 5시간 이내에 흡수량의 50% 이상이 이온교환을 통해 평형에 이르기까지 Ca^{++} 과 치환되어 골간부로 서서히 확산되어 골격계에 침착되는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾. 또한, 방사성스트론튬은 골격근계에 침착된 후 골수의 간세포에 방사선을 조사시킴으로써 골수세포의 형성부전증과 적혈구 감소증을 유발한다¹⁸⁾. 본 연구에서는 이러한 방사성스트론튬이 체내에 축적되기 전에 이미 체내에 존재하도록 함으로써 유입되는 방사성스트론튬의 흡착, 제거율은 더욱 증가될 것으로 사료된다. 그러나 수용성카이토산과 생체막과의 생화학적 작용기전은 이 단계에서는 연구되지 않았다. 카이토산은 매년 천억톤 정도 생물체내에서 생산되며 다당류로서 환경중에 다량이 분포되어 있지만, 대부분이 노폐물로 처리되고 있는 실정이다. 지구자원의 유효한 이용측면에서 볼 때 카이틴/카이토산은 최후의 바이오매스로서 그 이용이 기대되고 있다. 카이틴으로부터 분리, 유도되는 카이토산은 종마다 그 기능과 용도가 다르긴 하지만 천연의 착화제로서 그 독성이 낮아 방사성 물질의 흡착배출제로서 그 이용이 기대된다.

요 약

카이토산은 천연착화제의 일종으로 카이틴의 유도체인데 셀룰로오스와 유사한 다당류로서 갑각류, 곤충, 균류, 효모등에 널리 퍼져있다. 카이토산은 수용성과 불용성의 두가지 형태가 있다. 본 연구의 목적은 수용성카이

토산을 일반 마우스식이에 섞어 60일과 90일의 장기간 복용했을 때, 복강을 통하여 체내에 유입되는 방사성스트론튬을 효과적으로 제거할 수 있는가를 조사한 것이다. 그 효과를 카이토산을 처리하지 않은 대조군과 60일 처리군, 90일 처리군 간에 비교하였다. 10% 수용성카이토산 분말을 보통식이에 혼합하여 60일, 90일 간격으로 섭취시킨 후에 방사성스트론튬을 복강을 통하여 주사하였다. 그리고 5일간 식이를 복용시킨 후 6일째에 척추, 두개골, 대퇴골, 경골, 치아, 꼬리뼈 등으로 세분, 도살 부검하여 감마카운터로 측정하였다. 대조군은 카이토산을 처리하지 않았다. 각각의 실험군은 마우스 5개체로 구성하였다. 90일간 카이토산을 처리한 군이 대조군과 60일 처리군에 비해 방사성스트론튬의 골조직 침착율이 낮게 나타났다. 이러한 결과는 대부분의 골조직에서 동일하게 나타났다. 본 연구를 통해 수용성카이토산은 체내에 유입되는 카이토산을 제거하는데 효과가 있으며, 장기간 처리했을 때 그 효과는 더욱 증가되는 것으로 나타났다. 결론적으로, 수용성카이토산은 복강중으로 오염되는 방사성스트론튬의 방어약제로 쓰일 수 있으며, 그 중 장기간 수용성카이토산을 투여할 수록 그 배출효과가 증대될 것으로 기대된다.

REFERENCES

- 1) Cole VV, Harned BK, Hafkesbring R: *The Toxicity of strontium and calcium. J Pharm Exp Ther* 71:1-5, 1941
- 2) Browing E: *Toxicity of industrial metals. Butterworth London* 1969
- 3) Kroes R, Den Tonkelaar EM, Minderhoud A, Speijers GJ, Vonk-Visser DM, Berkvens JM, Van Esch GJ: *Shortterm toxicity of strontium chloride in rats. Toxicology* 7:11-21, 1977
- 4) Ilyin LA, Ivannikov AT, Parfenvof Yud, Stolyarov VP: *Strontium absorption through damaged and undamaged human skin. Health Physics* 29:75-80, 1975
- 5) Catsch A, Harmuth-Hoene AE, Mellor DP: *The chelation of heavy metals. Pergamon Press, New York*, 1979
- 6) Spencer H, Folstein A, Samachson J: *Effect of the chelating agent bis 2-aminoethylether tetraacetate*

- (BAETA) on radiostrontium excretion in man. *J Lab Clin Med* 59:445-4455, 1962
- 7) Catsch A: *Removal of radiostrontium from the mammalian body. In: Lenihan JM, Loutist JF, Marton JH (eds) Strontium Metabolism. Academic Press. London* 265-281, 1969
- 8) Kostial K, Vnucec M, Tominac, Simonovic L: *A method for simultaneous decrease of strontium, caesium and iodine retention of several divalent cations. Health Physics* 19:245-251, 1970
- 9) Arturo O, Mercedes G, Jose LD, Jacinto C: *The removal of strontium from the mouse by chelating agents. Arch Environ Contam Toxicol* 18:612-616, 1989
- 10) Arai K, Kinumaki T, fugita T: *Toxicity of chitosan. Bull Tokai Reg Fish Res Lab* 56:86-94, 1968
- 11) Kurita K, Chikaoaka S, Koyama Y: *Improvement of adsorption capacity for copper (II) ion by N-Nonanolation of chitosan. Chemistry Letters* 9-12, 1988
- 12) Muzzarelli RAA, Rocchetti R, Marangio G: *Separation of Zirconium, niobium, cerium in nuclear fuel solutions. J Radionucl Chem* 10:17-25, 1972
- 13) Sagaguchi T, Horikoshi T, Nakamura A: *Adsorption of heavy metal ions by chitosan phosphate. Nippon Nogeikagaku Kaishi* 53, No 5:149-156, 1979
- 14) Nishimura Y, Wui IS, Kim KW, Watari K, Imai K, Inaba J, Mazusaka N: *Effect of chitosan and alginate on the ebiokinetics of radiostrontium in rats. Radioisotopes* 40:244-247, 1991
- 15) 김광윤, 범희승, 김희경, 최근희, 김지열 : 수용성카이토산에 의한 체내 방사성 스트론튬의 제거. 대한핵의학회지 27:123-129, 1993
- 16) 김희경, 김광윤, 범희승, 최근희, 김지열 : 마우스에서 경구투여한 방사성스트론튬의 제거에 대한 카이토산과 알긴산의 효과. 대한핵의학회지 27:130-134, 1993
- 17) Vanderborcht OLJ, Van Puymbroeck S, Colard J: *Intestinal absorption and body retention of Radium-226 and Calcium in mice: Effect of sodium measured in vivo with a Gi (Li) detector. Health Physics* 21:181, 1971
- 18) Barneveld AAV, Puymbroeck V, Vanderborcht O: *The action of sodium alginate in the food on a Sr body burden in mice. Health Physics* 33:533-537, 1977