

방사선의 반복조사가 랫드 림프구의 염색체이상과 자매염색분체교환에 미치는 영향

이명구 · 이광성 · 조영채*

충남대학교 보건대학원, *충남대학교 의과대학 예방의학교실

The Effects of Fractionated Radiation on Chromosome Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in Rat Lymphocyte Culture

Myung-Goo Lee, Kwang-Sung Lee and Young-Chae Cho*

School of Public Health, Chungnam National University

**Dept. of Preventive Medicine, College of Medicine*

Chungnam National University

ABSTRACT

This study was undertaken to find out the bio-effects due to be a radiation fractionated exposure. The experimental animals were divided into the control group and the radiation exposure groups of 20cGy, 40cGy and 80cGy with 220 male Sprague-Dawley rats at 6 weeks old. The radiation exposure groups were fractionated exposed from each 20cGy, 40cGy and 80cGy for every 5 days. The chromosome aberrations, the frequency of SCE, the changes of body weight, hematological values and enzyme activities were investigated for the fractionating exposure times and the time after fractionated exposure.

The results were summarized as follows ;

1. The body weight of the radiation exposure groups were significantly decreased compared with control group according to the increasing fractionated exposure times, and it was the lowest values at the immediately after the end of the fractionating exposed, but it was recovered with the level of control group at 3rd weeks gradually increased 1st week after fractionated exposure.

2. The values of WBC, RBC, Hb and Hct in the radiation exposure groups were significantly decreased than those the control group, but the values of GOT, GPT, ALP, and LDH in the radiation exposure groups were significantly increased than those of the control group.

3. The frequency of chromosomal aberration were increased according to the increasing fractionated exposure dose, and it showed the highest at 5th days after fractionated exposed.

The types of chromosomal aberration were occurred such as a numerical abnormality, deletion, break and duplication, it was not recovered immediately and maintained high frequency than the control group.

4. The frequency of SCE were significantly increased according to the increasing fractionated exposure dose in 20cGy, 40cGy and 80cGy groups. But it was recovered the level of control group at 7th days after fractionated exposure.

According to the above results, this study could confirm that the frequency of chromosomal aberration and SCE were increased with fractionated exposure dose, the other hand, the changes of body weight, hematological values and enzyme activity values were significantly affected according to the increasing fractionated exposure dose.

Keywords : Sister chromatid exchanges(SCE), Chromosome aberrations, Radiation

I. 서 론

전리방사선은 여러가지 특성 중에서 물질을 투과하는 성질과 물질을 투과하는 과정에서 일으키는 생물학적 작용, 즉 생체를 구성하는 원자와의 상호작용에 의한 물리화학적 및 화학물의 조성변화로 인하여 방사선에 조사된 부분의 조직을 파괴하는 특성이 있는데, 이를 이용하여 치료목적으로 이용하기도 한다.¹⁾ 방사선은 의학, 농업, 산업, 이공학 등 각 분야에서 유익하게 이용되고 있는 반면에 방사선에 노출될 확률이 높아지고 피폭의 빈도가 증가하면서 부작용에 대한 피해가 나타나므로 이에 대한 안전 대책이 절실한 것으로 지적되고 있다.²⁾

방사선이 생체에 조사되면 재생불량성 빈혈³⁾이나 백혈병,⁴⁾ 만성 피부염이나 피부암,⁵⁾ 불임⁶⁾ 등을 초래하고 각종 신체적 장애 및 유전적 피해^{7,8)}가 발생하는 것으로 알려져 있다. 최근 방사선 생물학분야⁹⁾에서는 방사선이 생체에 미치는 영향에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있는데, 방사선 사고지역 내에서 노출된 주민의 피해,¹⁰⁾ 직업적으로 폭로된 근로자들의 세포 유전학적인 조사¹¹⁾와 진단 및 치료목적으로 폭로된 사람들,¹²⁾ 기타 돌연변이¹³⁾ 및 염색체이상^{14,15)} 등, 방사선이 인체에 미치는 영향에 대해 많이 보고되었다.

생물체가 방사선 피폭을 받게 되면, 생물체의 기관이나 조직세포가 영향을 받게 되고, 같은 세포내의 각종 대사과정과 DNA나 RNA 및 단백질 등과 같은 고분자 물질이 상해를 입게 되어 염색체이상(chromosome aberration)을 유발하게 된다. 염색체손상에 대한 세포 유전학적 검사는 방사선을 비롯한 환경위해물질의 위험성평가의 기준이 되어 왔으며¹⁶⁾ 개인차가 거의 없이 방사선량을 비교적 정확히 반영하는 장점을 가지고 있는 것으로 알려지고 있다.¹⁷⁾

그러나 세포배양 조건이나 세포배양 방법의 차이에 따라서 측정치의 편차가 발생할수 있기 때문에 이 문제를 극복하기 위해서 각 실험실마다 엄격한 세포배양 및 harvest과정과 slide 제작방법등을 준수하여 관찰할 것을 권고하고 있다.¹⁸⁾

한편 Perry 등¹⁹⁾에 의해서 개발된 fluorescence-plus-Giemsa(FPG)법에 의한 자매염색분체교환(sister chromatid exchange, 이하 SCE로 표기)은 전체적으로 염색체 형태에는 변화를 일으키지 않고 자매염색분체간의 동일한 부위에서 일어나는 교환현상이다. SCE는 돌연변이원(mutagen)이나 발암원

(carcinogen)의 처리에 따라서 교환빈도가 상승하고,²⁰⁾ 염색체이상에 비해서 지극히 예민한 반응이라는 점 등으로 현재 돌연변이원과 발암원 검사에 가장 민감한 지표로서 알려져 있으며, FPG 법에 의한 SCE는 방사선 조사에 의한 세포유전학적 손상 정도를 알아보는 데 널리 이용되고 있다.^{21,22)}

방사선 조사에 의한 염색체이상은 낮은 선량에도 선량-반응 효과가 인정되고 있으며 방사선의 양이 비록 미량일지라도 반복해서 피폭되든지 항상 노출을 받게 되면 그 집적선량(accumulated dose)이 증가되어 림프구의 염색체 이상과 SCE의 빈도수는 방사선에 노출되지 않은 상태에 비하여 뚜렷하게 높은 빈도를 나타내게 된다.

의료계통의 방사선 종사자, 우라늄광산의 근로자, 원자력 관계시설의 작업종사자, 방사선 치료를 받는 암 환자와 같이 방사선에 반복적으로 노출될 기회가 커지고 있어 생물학적 작용에 관한 충분한 해명과 함께 생체감시에 대한 대책이 요구 되고 있다. 방사선에 의한 세포유전학적 손상은 말초 혈액상의 변화는 물론 여러 장기조직에서도 나타나며 그 손상 정도를 평가하기 위하여 염색체이상 및 SCE 등을 관찰한 보고는 대부분 단회조사에 의한 실험이며 반복적으로 방사선을 조사한 후 반복조사 기간동안과 조사후 시간경과에 따른 영향을 관찰한 연구는 많지 않다.

따라서 본 연구는 동일 계통의 흰쥐를 사용하여 방사선을 반복적으로 조사함으로써 나타나는 염색체이상과 SCE 빈도수를 확인하고 더불어 체중과 혈액학치 및 효소활성치의 변화 등을 종합적으로 분석하여 방사선의 반복피폭에 의한 변화 양상을 규명해 보고자 실시하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

생후 4주된 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐(한국화학연구소 안전성 연구센터, 대전) 250마리를 구입하여 실험실에서 2주일간 적응 사육을 실시하면서 건강상태를 확인한 후 체중 250 ± 10 g의 건강한 흰쥐 220마리를 선정하여 실험에 사용하였다. 실험기간 중 사육환경은 실온 $24 \pm 5^\circ\text{C}$, 상대습도 $60 \pm 10\%$, 조명은 12시간 명암주기의 비율로 부분조명을 실시하였으며, 흰쥐용 사육상자(polycarbonate, $42\text{W} \times 18\text{D} \times 17\text{Hcm}$)에 각 군별로 구분하여 사육하였다.

사료는 시판 고형사료(제일사료, 대전)를, 음료수는 살균된 수돗물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2. 방사선조사

1) 실험군의 분류

실험동물은 방사선을 조사하지 않은 대조군과 20cGy조사군, 40cGy조사군, 80cGy의 방사선 조사군으로 구분하였다. 방사선 조사는 5일동안 매일 반복적으로 각 군별로 방사선을 조사한 후 매일 24시간 마다 혈액을 채취하여 염색체이상과 SCE빈도수 및 체중, 혈액학치, 효소 활성치의 변화에 대하여 관찰하였고, 반복조사가 끝난후 1일, 3일, 7일, 21일, 35일, 49일군으로 하여 시간경과적으로도 관찰하였으며, 실험동물은 각 군마다 5마리씩 220마리를 배치하였다(Table 1, 2).

2) 방사선 조사방법

흰쥐가 움직이지 않게 제작된 아크릴상자에 넣어 고정시키고, 방사선은 선형가속기(liner accelerator, Varian Co., U.S.A.) 6MV-X선을 사용하였으며, 조사야(field size)는 35 cm×35 cm, source-surface-distance(SSD)는 100 cm 거리로 하였다. 6MV-X선은 피하 1.5 cm 깊이에서 최대선량(build-up)이 형성됨으로 아크릴상자 전 후면에 1.5 cm 두께의 인체조직 등가물질인 bolus를 부착하여 쥐 표면에 균일하게 조사되도록 하였다. 방사선 조사량의 결정은 방사선의 노출에 의해서 세포의 괴사가 심하지 않아 염색체이상 및 SCE를 가장 잘 관찰할 수 있

는 것으로 보고²⁰⁾된 선량 범위로 50cGy~500cGy에서 암 치료 목적 등으로 가장 많이 사용되는 200 cGy를 기준으로 하였고 반복적으로 전신 조사됨을 고려하여 선정하였다. 방사선은 대향 2문조사로 각각 20cGy, 40cGy, 80cGy를 전신조사 하였으며, 이때 선량률(dose-rate)는 3Gy/min이다.

3. 체중측정 및 혈액채취

체중의 측정은 천평(top loading electric balance; Sartorius Co., Germany)을 사용하여 방사선 조사전의 체중을 측정하였고, 방사선 조사후에는 혈액채취 전에 측정하여 체중의 변화를 관찰하였다. 혈액채취는 각 군마다 5마리씩의 흰쥐를 ethyl ether로 마취시키고 심장으로 부터 혈액을 채취하였으며, 혈액응고를 방지하기 위하여 heparin으로 처리된 멸균 주사기를 이용하였다.

4. 혈액학치 및 효소활성치의 측정

혈액학치 측정은 sodium-EDTA로 처리된 CBC-bottle에 혈액을 채취한 후 20분이내에 coulter counter(S-plus STKR, U.S.A.)를 사용하여 white blood cell(WBC), red blood cell(RBC), Hemoglobin(Hb) 및 hematocrit(Hct)치를 측정하였다.

효소활성치 측정은 혈액을 3,000 rpm으로 10분간 원심침전하고 혈청을 분리하여glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT), alkaline phosphatase(ALP) 및 lactate dehydrogenase(LDH)를 효소법을 이용하여 자동화학분석기(Hitachi 747, Japan)로 측정하였다.

5. 세포배양

배양액은 Rosewell Park Memorial Institute (RPMI) 1640(GIBCO, U.S.A.)에 sodiumbicarbonate(최종농도 2.0 g/l, SIGMA)와 25 mM HEPES(SIGMA)를 가하여 pH가 6.8에서 7.2범위가 되도록 적정하였다. 또한 56°C water bath에서 30분간 불활성화 처리한 15% fetal bovine serum(FBS, GIBCO, U.S.A)를 가하고 penicillin-streptomycin(100U/ml-100 µg/ml,GIBCO, U.S.A.)을 첨가하였다. 멸균된 T-25 flask(Falcon, U.S.A.)에 배양액 9 ml와 전혈 1 ml를 넣어 10 ml를 만든 후 세포분열 촉진제인 M type 의 phytohemagglutinin(PHA-M, GIBCO, U.S.A.) 0.25 ml를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 총 72시간을 배양하였다. 배양이 끝나기 2시간 전에 방추사 형성

Table 1. Number of rats by fractionated X-irradiation

Group	Times of fractionated X-irradiation					Total
	1	2	3	4	5	
Control	5	5	5	5	5	25
20cGy	5	5	5	5	5	25
40cGy	5	5	5	5	5	25
80cGy	5	5	5	5	5	25

Table 2. Number of rats by the time after fractionated X-irradiation

Group	Times of fractionated X-irradiation						Total
	1st	3rd	7th	21th	35th	49th	
Control	5	5	5	5	5	25	30
20cGy	5	5	5	5	5	25	30
40cGy	5	5	5	5	5	25	30
80cGy	5	5	5	5	5	25	30

억제 물질인 colcemid(GIBCO, U.S.A.)를 0.1 ml 첨가하였다.

6. 염색체이상의 실험

방사선의 반복조사에 의해서 염색체이상에 미치는 영향을 관찰하기 위해서 방사선 조사후 24시간마다 혈액을 채취하여 세포를 배양하였고, 방사선의 선량증가에 따른 변화를 측정하고 조사후 시간경과에 따른 염색체이상 빈도를 측정하였다.

세포배양은 Latt²⁴⁾방법을 적용하여 실시하였으며, harvest 과정을 살펴보면, 배양이 끝나면 시험관을 1,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거하고 저장액인 0.075M의 KCl 용액 10 ml을 Vortex mixer를 이용하여 서서히 혼합한 후 37°C water bath에 넣고 20분간 저장하였다. 다시 1,000 rpm으로 8분간 원심분리한 후 상층액을 제거하고 고정액인 무수메타놀과 빙초산(metanol:acetic acid)을 3:1의 비율로 혼합하여 Vortex mixer를 이용하여 고정한 후 1시간 동안 냉장고에 방치하였다. 그후 다시 원심분리하고 고정을 3회 반복한 후 상층액을 제거하고 pasteur pipette을 이용하여 잘 섞은 다음 증류수로 미리 적신 slide glass (corning, U.S.A.)위에 30 cm 정도의 높이에서 2-3방울씩 떨어뜨려 slide glass 위에 고루 퍼지도록 한후 공기중에 건조시켰다. 제작된 염색체 슬라이드를 60°C dry oven에서 overnight시켜서 G-분염(G-banding)을 실시하였는데 그 방법은 trypsin(GIBCO)용액에서 37초간 처리하고 증류수로 세척한 후 Leishman stain(SIGMA)용액에 13분간 염색하고 다시 증류수로 세척하여 광학현미경으로 100배율에서 핵분열 중기(metaphase)에 해당하는 세포를 찾은 후 1,000배로 확대하여 관찰하였으며, 염색체이상의 판독은 Levan²⁵⁾의 rat idiogram을 참조하였다.

7. 자매염색분체교환의 실험

자매염색분체교환의 실험은 Perry 등¹⁹⁾의 방법과 Goto 등²⁶⁾의 방법을 약간 변형하여 실시하였다. 세포를 culture flask(T-25 Falcon, U.S.A.)에 넣어 37°C, 5%RM CO₂ incubator에서 24시간 배양한후 대조염색을 위해서 Brdu(5-bromo-2-deoxyuridine, SIGMA) 0.1 ml를 첨가하였으며, 세포배양은 Brdu의 광분해(photoysis)을 막기 위하여 aluminium foil로 감쌌다. 배양한 세포를 수거하기 2시간 전에 colcemid

(GIBCO, U.S.A.)를 0.1 ml 첨가하여 배양기를 부드럽게 흔들어 준 후 총 72시간 동안 배양하였다.

SCE를 관찰하기 위해 Perry 등의 FPG 염색법을 이용하여 slide 를 Hoechst 33258(5 µg/ml in sorenson's buffer, SIGMA)로 25분간 염색하여 3차 증류수로 씻어 말린 후 M/15 sorenson's buffer(pH 6.8) 용액을 점적하여 slide로 부터 25 cm 높이에서 254 nm UV mineralogic lamp로 20-30분간 조사하였다. 그리고 slide를 3차 증류수로 씻고 60°C에서 2×SSC 용액에 2시간 정치한 후 탈 이온수로 씻어 10% Giemsa용액(in sorenson's buffer)에서 15분간 염색하였다. SCE의 빈도는 광학현미경으로 100배율에서 metaphase를 찾은 후 1,000배율로 확대하여 관찰하였다.

8. 통계처리

실험을 통하여 얻은 자료는 SPSS/PC⁺ 프로그램을 이용하였으며 대조군과 실험군간의 유의성 검증은 Student's t-test로 분석하였다.

III. 결 과

1. 체중의 변화

방사선을 매일 반복적으로 조사한 흰쥐 체중의 변화를 보면 5일간 반복조사된 군은 대조군에 비해서 반복조사의 횟수가 증가함에 따라 체중의 감소를 보였다. 20cGy군은 반복 조사와 함께 계속 체중이 감소하여 5일간 반복조사가 끝난 1일 후에 가장 큰 감소를 보였고, 3일 이후 부터는 서서히 회복하였으며, 40cGy군도 반복 조사 후 1일에 최저치를 나타내었으며, 80cGy군은 반복조사 후 3일에 가장 큰 감소치를 보인 후 증가하기 시작하여 21일에서 부터 대조군 수준으로 회복되는 경향을 나타내었다.

방사선 조사군간의 체중 변화를 보면 20cGy, 40cGy, 80cGy군 중에서 40cGy군이 반복조사 후 1일에 가장 낮은 수치를 보였고, 방사선 조사후에는 20cGy, 40cGy, 80cGy 순으로 체중이 증가하기 시작하여 회복되는 경향을 나타내었다(Fig. 1).

2. 혈액학적 소견 및 호소활성치의 변화

1) 혈액학적 소견

WBC는 대조군보다 실험군이 반복조사 직후인 1일부터 계속 감소하는 값을 나타냈으며, 80cGy군에서 가장 큰 감소를 보였고, 반복조사와 함께 선량

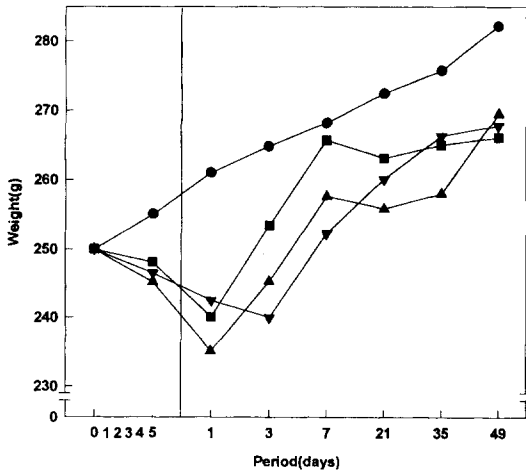


Fig. 1. Body weight changes of rats in X-irradiation groups and control group. (● - Control, ■ - 20cGy, ▲ - 40cGy, ▼ - 80 cGy)

이 많아 질수록 감소되는 폭이 증가하였으며, 회복은 조사가 끝난 후 3주 부터 서서히 대조군 수준으로 회복되는 경향을 나타내었다. RBC도 대조군에 비해서 반복조사됨에 따라 감소하였으며 조사후 3주 부터 서서히 증가하는 경향이였다.

Hb 와 Hct의 경우 대조군에 비해 방사선 조사군은 반복조사로 선량이 증가함에 따라서 점진적으로

감소하였으며, 5회 반복조사 직후에 최소치가 된 다음 점차 회복하는 변화를 나타내었다(Fig. 2).

2) 효소활성치의 변화

GOT, GPT, ALP 및 LDH치는 대조군에 비해 실험군은 반복조사 1일부터 선량이 증가함에 따라 유의하게 높은 값을 보였다. 비교적 선량이 많은 80cGy군은 20cGy, 40cGy군에 비하여 반복조사됨에 따라 GOT, GPT, ALP에서 더 높은 값을 나타내었고, 반복조사가 끝난 직후에 가장 높은 변화를 보이다가 조사가 끝난 후 서서히 회복하는 경향을 나타내었다(Fig. 3).

3. 염색체이상의 관찰

방사선 반복조사에 따른 염색체이상은 수적이상(numerical abnormalities)이 제일 많은 빈도를 나타냈고, 구조적이상(structural abnormalities)에서는 deletion이 가장 많았고, break, gap, duplication도 나타났으며, 방사선의 선량증가와 반복조사 횟수의 증가에 따라 세포당 염색체이상률이 증가하는 경향을 보였다(Photo 1-3).

대조군에서의 세포당 염색체이상률은 0.13의 수준이었고, 방사선 1회 조사후의 세포당 염색체이상률은 20cGy군 0.23, 40cGy군 0.30, 80cGy군 0.27로 40cGy군에서 가장 높은 세포당 염색체이상률을

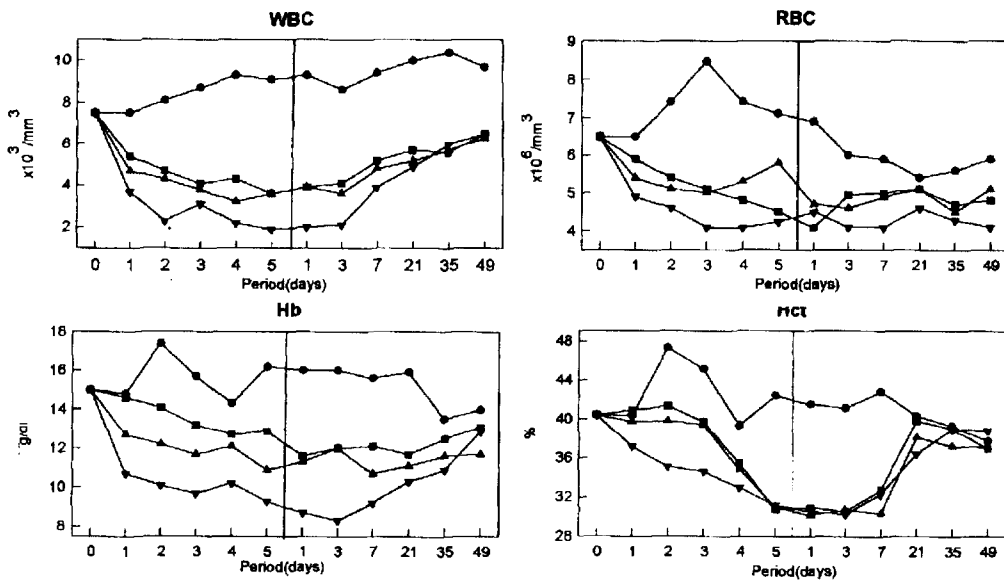


Fig. 2. Hematological values(WBC, RBC, Hb and Hct) of rats in the X-irradiation groups and control group. (● - Control, ■ - 20cGy, ▲ - 40cGy, ▼ - 80 cGy)

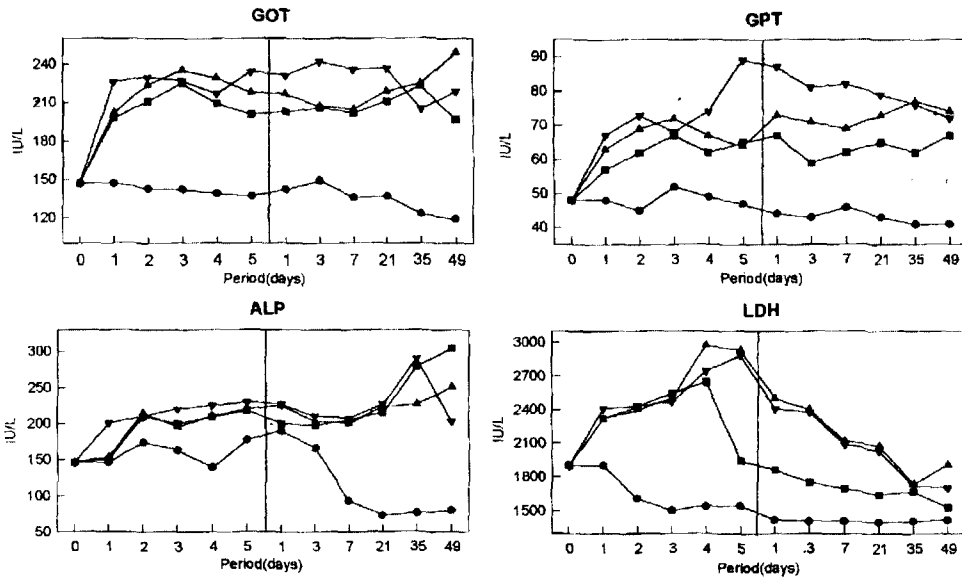


Fig. 3. Enzyme activities changes(GOT, GPT, ALP and LDH) of rats in the X-irradiation groups and control group. (● - Control, ■ - 20cGy, ▲ - 40cGy, ▼ - 80cGy)



Photo 1. Metaphase description chromosome aberrations in radiation induced rat cells: control.

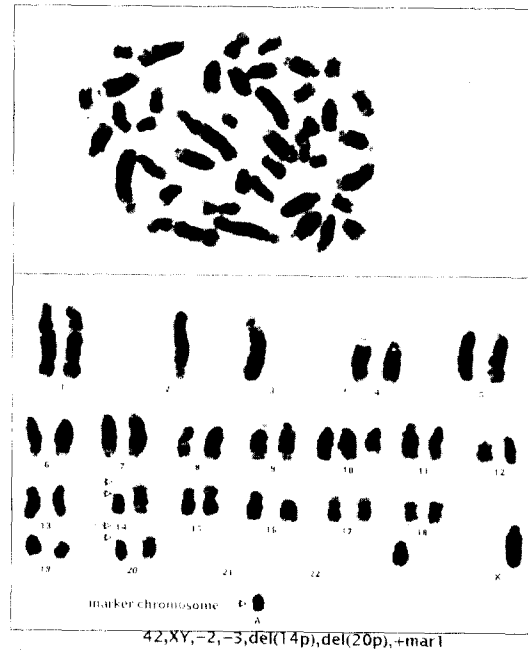


Photo 2. Metaphase description chromosome aberrations in radiation induced rat cells: deletion.

나타내었으며, 방사선 반복 5회 조사후의 세포당 염색체 이상률은 20cGy군 0.70, 40cGy군 0.86, 80cGy군 0.77로 나타내, 방사선의 반복조사가 진행됨

에 따라 선량이 증가하면서 더 높은 염색체 이상을 나타내어 방사선 선량과 염색체 이상과의 선형적인 관계를 나타내었다(Table 3).

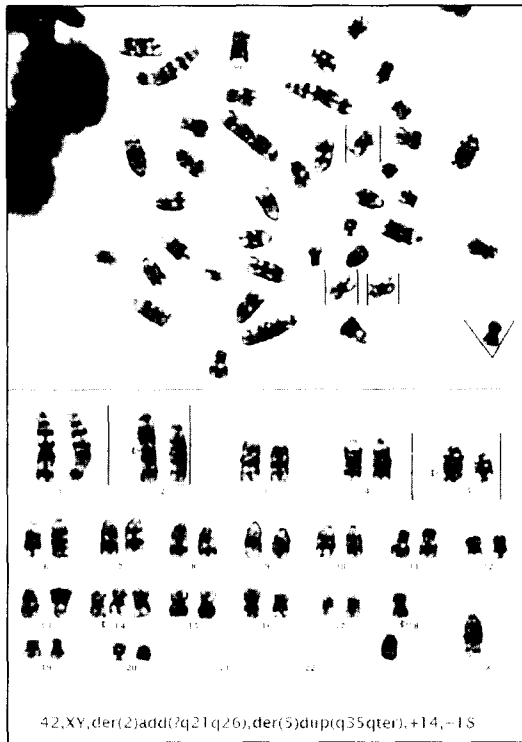


Photo 3. Metaphase description chromosome aberrations in radiation induced rat cells: numerical ab, duplication.

방사선 반복조사 후 시간경과에 따른 염색체 이상을 관찰한 결과 1일 경과 후에 가장 높은 세포당 염색체 이상률을 보였으며 49일에서의 세포당 염색체 이상률은 20cGy에서 0.53, 40cGy에서 0.60, 80cGy에서 0.60이 관찰되어 시간경과에 따른 염색체 이상률은 약간의 감소가 보였다(Table 4).

4. 자매염색분체교환의 관찰

방사선 반복조사를 실시한 1회부터 SCE 빈도수는 유의하게 증가하였고($p < 0.01$), 방사선이 반복조사됨에 따라 지속적인 SCE 빈도의 증가를 보였으며, 1일군에서의 SCE를 보면 대조군은 4.46, 20cGy는 6.91, 40cGy는 12.09, 80cGy는 12.82를 나타내어 대조군에 비해 유의하게 높은 빈도를 보였으며, 5일간의 반복조사군의 SCE는 선량이 증가 할수록 빈도수가 대조군에 비해 유의하게 높았다($p < 0.01$).

방사선 반복조사후 시간경과에 따른 SCE 빈도수를 관찰한 결과 1일군에서는 20cGy, 40cGy, 80cGy군 모두 대조군에 비해 유의하게 높은 SCE 빈도를 보였고($p < 0.01$), 7일군에서는 40cGy군과 80cGy군만 대조군에 비해서 유의성이 인정되었으며 21일군 이후 부터는 모든 실험군과 대조군이 비슷한 수준의 SCE 빈도수를 나타내었다(Table 5, Photo 4).

Table 3. Frequencies of chromosome aberrations in rat peripheral lymphocyte cultured at 24hrs after fractionated whole body X-irradiation

Dose (cGy)	Fraction numbers	Chromosome aberrations					Frequency of chromosome ab./cell
		Numerical ab.	Deletion	Break	Gap	Duplication	
20	0	2	1	1	0	0	0.13
	1	4	2	1	0	0	0.23
	2	4	4	1	0	0	0.30
	3	7	4	1	1	0	0.43
	4	8	6	2	1	1	0.60
40	5	9	7	3	1	1	0.70
	0	3	1	1	0	0	0.13
	1	3	3	1	1	1	0.30
	2	7	5	2	0	1	0.50
	3	9	6	2	1	1	0.63
80	4	8	7	3	1	2	0.70
	5	11	9	3	2	1	0.86
	0	2	2	1	0	0	0.16
	1	4	3	0	0	1	0.27
	2	6	3	1	1	1	0.40
80	3	9	7	1	1	0	0.60
	4	9	8	2	1	1	0.70
	5	10	7	4	1	1	0.77

ab: aberration, *Based on 30 cells analyzed in each group

Table 4. Frequencies of chromosome aberrations in rat peripheral lymphocyte cultured by several time intervals after fractionated whole body X-irradiation

Dose (cGy)	Time after irradiation	Chromosome aberrations					Frequency of chromosome
		Numerical ab.	Deletion	Break	Gap	Duplication	
20	0	2	1	1	1	0	0.17
	1	9	7	3	0	1	0.67
	3	8	7	2	1	1	0.70
	7	9	8	3	1	0	0.67
	21	8	8	2	0	1	0.60
	35	7	7	3	1	0	0.53
	49	7	6	2	1	0	
40	0	2	1	1	0	0	0.13
	1	11	9	3	1	1	0.83
	3	11	7	2	1	0	0.70
	7	9	8	2	1	1	0.70
	21	10	9	2	1	0	0.73
	35	8	8	3	0	0	0.63
	49	8	8	1	1	0	0.60
80	0	3	2	1	0	0	0.20
	1	10	7	3	1	1	0.73
	3	9	8	3	0	1	0.70
	7	9	7	2	1	1	0.67
	21	7	8	3	1	0	0.63
	35	8	7	3	1	0	0.63
	49	8	7	3	0	0	0.60

ab: aberration, *Based on 30 cells analyzed in each group

Table 5. Frequencies of SCE in rat peripheral lymphocyte cultured by fractionated whole body X-irradiation and the time after whole body X-irradiation

	Fraction numbers	Counted cell	Dose (cGy)			
			Control	20	40	80
Fraction irradiation	1	30	4.46±1.44	6.91±1.21**	12.09±1.51**	12.82±1.60**
	2	30	4.36±1.21	12.27±1.74**	13.54±1.92**	14.45±1.57**
	3	30	4.18±1.68	11.23±1.62**	14.36±1.36**	14.27±2.33**
	4	30	4.09±1.04	12.45±1.28**	14.27±2.19**	15.36±1.21**
	5	30	4.45±0.93	12.73±1.10**	15.54±1.81**	15.38±1.81**
Time after irradiation	1	30	4.36±1.12	8.45±1.29**	10.27±2.49**	10.82±1.66**
	3	30	4.18±1.33	5.64±1.12*	5.18±0.87*	5.64±1.03**
	7	30	4.27±1.10	4.55±1.22	5.27±1.27*	5.82±1.25**
	21	30	4.27±1.49	5.45±1.81	5.18±0.98	5.55±1.21
	35	30	4.18±1.17	4.82±1.33	4.73±0.91	4.36±1.12
	49	30	4.27±1.35	4.54±1.37	4.73±1.27	4.45±1.13

*p<0.05, **p<0.01(significantly different from the control group)

IV. 고 찰

방사선은 여러 분야에서 다양하게 이용되고 있는데, 방사선 및 동위원소 물질의 이용과 우라늄광산

근로자들과 원자력시설의 확충에 따른 핵시설의 사고 발생 가능성 및 원자력발전소 주변의 방사성물질에 반복적으로 노출될 위험성이 점차 증가되고 있으며 방사선 과학분야를 비롯한 의학이 발달됨으로서

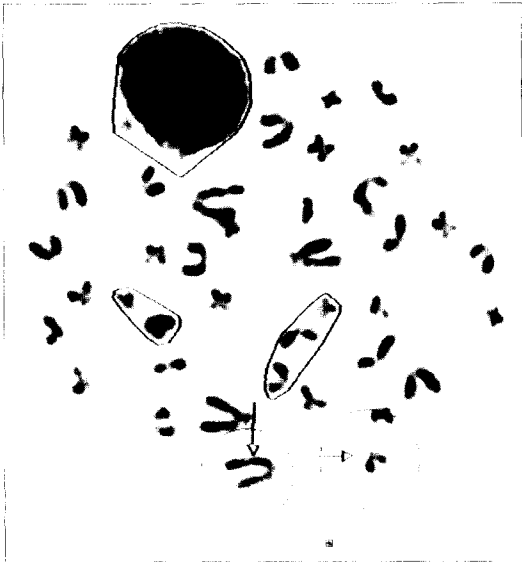


Photo 4. Metaphase description SCE in radiation induced rat cells.

진단 및 치료목적으로 방사선에 반복적으로 노출될 기회가 증가하면서 방사선에 대한 위험이 더욱 커지고 있다.

이와 같은 점을 고려하여 본 실험은 방사선에 반복 노출됨으로서 발생할 수 있는 염색체이상 및 SCE 빈도수를 확인하고 체중, 혈액학적 조건, 효소활성치의 변화와 시간경과 후 나타나는 영향 등에 대하여 검토해 보고자 시도하였다.

먼저 방사선의 반복조사에 의한 흰쥐 체중의 변화를 보면 대조군에 비해서 실험군 모두 방사선이 조사되면서 체중의 감소가 나타나고 5일간의 반복조사가 끝난 직후에 가장 큰 감소치를 보였으며, 시간 경과적으로 본 체중의 변화는 반복조사후 3일 이후 부터 서서히 증가하는 경향을 보였다. 이는 방사선의 반복조사에 의해서 선량이 증가하면서 권태감, 무력감, 식욕 부진 등으로 체중의 감소가 나타나고, 그 중 식욕감퇴(anorexia)가 주 원인인 것으로 생각되어지며 이와같은 현상은 Bond 등²⁷⁾의 연구에서도 관찰되었다.

혈액학적 조건에서 WBC는 방사선 조사후 급격히 낮아졌으며, RBC는 서서히 하락하는 경향을 나타냈고, Hct, Hb도 낮았으며, 선량이 증가하면서 감소폭이 더욱 크게 나타났고, 조사가 끝난 후 서서히 증가하기 시작하여 3주 이상이 되면서 부터 대조군 수준으로 회복하는 경향을 보였는데 이러한 현상은

1968년 Casarett²⁸⁾가 흰쥐에 10Gy의 방사선을 전신 조사한 후 골수 증후군(BM syndrome)을 관찰한 연구에서 WBC는 조사직후 부터 급격히 감소하여 5일 후에 최저치를 보였고, RBC, Hb, Hct 등은 서서히 감소한 후 회복된다는 보고와 비슷한 양상을 나타냈다. 또 1969년 Mastsubara²⁹⁾ 등은 직접선량이 커질수록 림프구 숫자가 감소하여 림프구 수가 방사선 조사전의 수준이 되는데는 3주 이상이 걸린다는 보고와 일치하였다. 이는 방사선이 조혈기관에 영향을 미쳐 이들의 생성이 저하된 것으로 생각되어지며 방사선의 감수성이 큰 WBC는 급격한 변화를 보이지만, RBC는 방사선 감수성이 낮아 조사후 골수내의 적혈구 생성은 뚜렷하게 감소시키나 순환세포의 수는 순환세포계의 전환율이 늦기 때문에 변화의 발현은 서서히 나타나는 것으로 생각된다. Hb 및 Hct는 방사선 조사후 감소현상이 나타나기 시작하여 1-2주 사이에 극심한 빈혈³⁰⁾이 발생할 수도 있는데 이러한 원인은 방사선에 의해 세포생성의 감소 등으로 기인하는 것으로 사료된다.

혈청 중의 효소활성치 변화를 보면 GOT, GPT, ALP 및 LDH 모두 대조군에 비하여 실험군에서 유의하게 높은 수치를 보였으며 반복조사에 따라 더욱 증가하는 경향을 나타냈는데, 이같은 현상은 생물체가 방사선에 노출되면 효소활성에도 영향을 받음으로써 대사작용에 이상을 초래하고 아미노산 대사에 관계하는 효소들은 방사선 조사로 인하여 세포내에 존재하던 효소가 혈액속으로 유출되어 혈청에서의 활성도가 변화하는 것으로 알려져 있다. Albaum³¹⁾이 토끼에서 750R의 X선을 조사하였을 때 혈청의 LDH 활성이 24시간 후에 증가하였다는 보고와, 생체에 방사선이 조사되면 각 조직 세포들의 괴사가 발생되고 GOT, GPT는 혈청에서의 활성도가 증가한다고 Michaelson 등³²⁾이 발표하였고, Elikina 등³³⁾은 흰쥐에 Plutonium-239 감마선을 조사한 후 혈청에서의 GOT, GPT, ALP 활성을 측정하여 그 변화를 본 바 리소솜의 파괴 및 변화가 발생하여 증가한다고 발표하였는데 이상과 같은 보고는 본 조사의 결과와도 일치하여 같은 기전에 의해서 효소 활성의 변화가 나타나는 것으로 생각된다.

염색체이상은 크게 수적이상(numerical abnormalities)과 구조적이상(structural abnormalities)으로 구분하며 수적 이상에는 염색체 기본수(2n) 이상을 가지는 배수성(polyploidy)과 정상적인 염색체 수보다 하나 혹은 몇 개의 염색체가 많거나 적은 경우를

이수성(aneuploidy)이라고 한다. 본 연구에서 염색체 이상의 빈도는 수적이상이 가장 많이 나타났으며, 대부분이 이수성이상을 보였고 방사선이 반복조사되어 선량이 증가 할수록 수적이상의 빈도수가 증가하였는데 Sharma³⁴⁾의 연구에서 선량의 증가에 따라 염색체이상의 빈도수가 증가하였다는 보고와, 사람의 림프구에서 방사선을 조사하고 Chemical mutagen을 처리하여 관찰한 Bochkov³⁵⁾의 결과와도 비슷하였다. 또 염색체이상 중 구조적이상으로는 deletion, break, duplication, gap 등이 있었으며 그 중 deletion이 가장 많은 빈도수를 나타냈다. 방사선에 의한 염색체 이상은 dicentric, ring, break 등이 주로 빈발하는 것으로 Sharma와 Das 등의 연구에서 보고되고 있으나, 본 조사에서는 수적이상과 deletion, break, duplication 순으로 유발되어 타 연구와는 다른 경향을 보였는데, 이는 사람의 림프구에서의 염색체이상은 dicentric, ring등이 많이 빈발하는 것으로 알려져 있고,^{14,15)} 랫드의 림프구에서는 X-chromosome, deletion, break, gap 등이 유발되는 것²¹⁾으로 볼때 실험대상의 종(species)에 따른 차이점으로 생각되어진다.

방사선의 반복조사에 의해서 나타나는 염색체손상은 1일 조사한 것에 비해서 5일동안 반복적으로 조사한 군은 현격한 염색체이상을 나타내고 있는 것으로 보아 방사선선량이 증가할수록 염색체손상 정도도 증가되는 것으로 관찰된다. 1989년 Guedney 등³⁶⁾은 rhesus monkey를 1회 전신조사한 경우와 반복적으로 전신조사한 것을 비교 관찰한 연구에서 이러한 림프구수의 변화와 염색체 이상의 변화가 잘 나타나고있다. Gnedeny 등은 일일선량 40cGy, 60cGy를 5회에 걸쳐 전신조사한 결과 매일 매일의 염색체 이상이 서로 특징적으로 더해지는 것을 보고하였는데 본 연구에서도 반복조사에 따른 염색체이상은 선량의 증가에 따라 유의하게 높은 빈도를 나타내어 같은 기전에 의한 것으로 사료된다.

또한 시간 경과에 따른 염색체이상을 관찰한 결과 세포당 염색체이상률은 반복조사가 끝난후 24시간까지는 빈도수가 증가하다가 그 이후에는 점차 상해를 받은 염색체가 회복되어 감소한다는 Nagasawa¹¹⁾의 보고가 있는데 본 조사에서도 시간 경과후 염색체이상의 빈도수가 감소되어 나타났다. 이는 방사선을 받은 림프구 자체가 줄어들 뿐 아니라 정상적으로 림프구가 가질 수 있는 분열능에 의해서나 그밖의 분열 촉진물질에 의해서 불안정 염색체이상을 가

진 림프구들이 선택적으로 사멸되기 때문인 것으로 해석된다.

SCE는 전체적인 염색체의 형태에는 변화를 일으키지 않고 동일 좌위에서 자매염색분체가 서로 교환되는 현상으로 세포분열중 DNA복제시 thymidine 염기 위치에 그 유도체인 Brdu를 대치시켜 DNA 나선구조의 한 가닥은 Brdu가 위치하고 다른 하나는 thymidine을 그대로 갖게 되어 2차 분열이 시작되면 한 쪽 염색분체는 DNA 나선의 한 가닥만 Brdu를 갖고 이의 자매염색분체는 두 가닥 모두 Brdu로 대치되어 형광염료 및 Giemsa용액이 염색되지 않으므로 SCE가 일어난 것을 확인할 수 있다.

본 연구에서 SCE의 변화를 보면 반복조사에 의해 선량이 증가함에 따라서 SCE의 빈도수가 점차 높게 나타나고 있는데, Perry와 Evan³⁷⁾의 CHO 세포에서 얻은 결과나, Tofilon과 Deen³⁸⁾의 흰쥐 배양세포에서 선량이 많아짐에 따라 유의한 SCE 증가를 확인하였고, Grundy 등³⁹⁾이 사람의 림프구를 *in vivo*나 *in vitro*에서 전리 방사선에 노출시켜 얻은 결과나 Abramovsky⁴⁰⁾등이 림프구에서 L-cysteine을 처리한 후 방사선을 조사하여 얻은 결과와도 비슷한 양상을 보였다. 방사선 반복조사의 횟수가 증가할 수록 매 조사 때마다 SCE 빈도수가 유의하게 높은 값을 나타내었으며 방사선 반복조사후 시간 경과에 따른 SCE 변화는 반복조사가 끝난 후 3일까지는 유의성이 있게 높았으나 7일 부터는 대조군 수준으로 회복되는 경향을 나타냈다. 이와 같은 현상은 Kligerman⁴¹⁾의 조사에서도 관찰되었는데 이는 시간이 지남에 따라 손상된 세포들이 대부분 사라지고 새로운 정상세포들이 출현하기 때문인 것으로 사료된다.

이상과 같은 결과를 종합하여 검토해 보면 방사선의 반복 조사의 횟수가 많아질 수록 염색체이상과 SCE의 빈도수가 선형적으로 증가하였고, 체중과 혈액학치 및 효소 활성치의 변화도 선량의 증가에 따라서 유의한 영향을 나타냈으며, 반복조사가 끝난후에는 회복되는 경향을 확인할 수 있었다.

다만 방사선 반복조사에 의한 영향을 5회의 반복조사로 나타나는 것을 관찰한 결과로는 아쉬운 점이 있으며 차후 반복 조사에 의한 영향을 좀더 구체적이고 명확하게 규명하기 위해서는 단회조사와 반복조사와의 비교관찰, 세포분열의 지연에 대한 영향, 장기간의 방사선 반복조사로 세포수가 증가되어 포화되는 양상등을 확인하기 위해서 계속적인 실험 관

찰이 수행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

방사선의 반복조사에 의하여 나타나는 생체에 대한 영향을 확인해 보고자 생후 6주된 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐 220마리를 대조군과 20cGy, 40cGy, 80cGy의 방사선 조사군으로 구분하여 방사선 조사군은 각 선량군별로 5일동안 매일 반복조사를 실시하였으며, 반복조사 기간동안과 조사 후 시간경과에 따른 염색체이상 및 SCE 빈도수를 확인하고 체중, 혈액학적 소견, 효소 활성치의 변화 등을 비교 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 체중은 방사선 조사군이 대조군에 비해 방사선이 반복조사됨에 따라 유의하게 감소되었으며 반복조사가 끝난 직후에 가장 큰 감소치를 나타내었고, 반복조사후 1주 부터는 증가하여 3주 후에는 대조군 수준으로 회복하는 경향을 보였다.

2. 혈액학적 소견으로 WBC, RBC, Hb 및 Hct치는 대조군에 비하여 방사선 조사군에서 반복조사와 함께 유의하게 감소하였으나, 효소 활성치인 GOT, GPT, ALP 및 LDH는 모두 대조군보다 방사선 조사군에서 유의하게 증가하였다.

3. 염색체이상은 반복조사에 의해 선량이 증가함에 따라 염색체이상의 빈도가 증가하였고, 5일간의 반복조사 후에 가장 높은 빈도수를 보였으며, numerical abnormalities, deletion, break, duplication 등이 유발되었으며, 시간경과에 따른 염색체이상은 바로 회복되지 않고 대조군에 비해 높은 빈도수를 유지 하였다.

4. SCE의 빈도는 20cGy, 40cGy, 80cGy군 모두 선량증가에 따라서 방사선 조사 후 24시간 경과시 매우 유의하게 증가되었으며, 방사선 반복 조사가 끝난 후 7일 부터는 시간 경과에 따라 대조군 수준으로 회복되었다.

이상의 결과를 살펴볼 때 방사선 반복조사에 의해 선량이 증가할수록 염색체이상과 SCE의 빈도수가 증가하였으며, 체중과 혈액학적 및 효소활성치의 변화도 선량의 증가에 따라 유의한 영향을 받고 있음을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1) Little JB: Environment hazard. Ionizing radiation.

- NEJM, **275**, 929, 1966.
- 2) IAEA: Manual on early medical treatment of possible radiation injury. IAEA, safety series No 47, Vienna, p74, 1978.
- 3) Broerse JJ, Mac vittie JJ Eds: Responses of different species to total body irradiation. Martinus Nijhoff, Boston, 1984.
- 4) BEIR III: The effects on populations of exposure to low levels of ionizing radiation, report of the committee on the biological effects of ionizing radiations. National Academy of Science, Washington D.C., 1980.
- 5) Burns RJ, Vanderlaan M: Split dose recovery for radiation induced tumors rat skin. *Int J Radiat Biol.* **32**, 135, 1977.
- 6) Kim JY: Basic radiology. Kyo Moon Gak, Seoul Korea, p109, 1987.
- 7) Kelly S, Brown CD: Chromosome aberrations as a biological dosimeter. *AJPH*, **55**(9), 1419, 1965.
- 8) 労働科学研究所: 労働衛生ハンドブック. 第 5版, p 622, 1958.
- 9) Von Sonntag C: The chemical basis of radiation biology. Taylore Francis, London, 1987.
- 10) Mitoshi akiyama, On-liang Zhon, Yoichiro Kusunoki, Seishi Kyoitumi, Nobuoki Kohno, Suminori akiba, Robert R, Delong champ: Age and dose related alteration *in vitro* mixed lymphocyte culture response of blood lymphocytes from A-bomb survivors. *Radiat Res*, **117**, 26, 1989.
- 11) Gunday S, Varga CP: Chromosomal aberration in healthy persons. *Mutat Res*, **120**, 187, 1987.
- 12) Balasem AN, Ali ASK, Hashim S, Hussain KO: Chromosomal aberration analysis in peripheral lymphocyte in radiation workers. *Mutat Res*, **271**, 209, 1993.
- 13) Brewer JG, Preston RJ, Jones KP, Gossles DG: Genetic hazards of ionizing radiations: Cytogenetic extrapolation from mouse to man. *Mutat Res*, **17**, 245, 1973.
- 14) Nagasawa H, Little JB: Changes in frequencies of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges during confluent holding recovery in X-irradiated normal human diploid fibroblasts. *Int J Radiat Biol*, **48**, 597, 1985.
- 15) Yi CJ, Ha SW: Analysis of chromosomal aberration induced by low dose of radiation. *J Korean Soc Ther Radiol*, **11**, 233, 1993.
- 16) Michelmann HW, Maier P, Ficsor G, Feldman DB: Bone marrow and lymphocyte cytogenetics of rhesus monkeys treated with the clastogen mitomycin C. *Mutat Res*, **57**, 77, 1978.
- 17) Kelly S, Brown CD: Chromosome aberration as a biological dosimeter. *AJPH*, **55**(9), 1419, 1965.

- 18) Carrano AV, Thomson LH, Lindl PA, Minkler JL: Sister chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. *Nature*, 251, 156, 1978.
- 19) Perry P, Wolff S: New Giemsa method for differential staining of sister chromatids. *Nature*, **251**, 156, 1974.
- 20) Stetka DG, Wolff S: Sister chromatid exchanges as an assay for genetic damage induced by mutagenic and carcinogens. II *in vitro* test for compounds requiring metabolic activation. *Mutat Res*, **41**, 343, 1976.
- 21) Lee JB: Effects of X-ray irradiation on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in mouse spleen and bone marrow lymphocyte culture. Graduate School of Chonbuk National University, 1988.
- 22) 生島隆治: 放射線による *in vivo* SCE の誘發. SCE 姉妹染色分體交換と環境科學サイエンスフォーラム, 東京, p441, 1985.
- 23) Hlatky L, Sachs R, Hahnfeldt P: Reaction kinetics for the development of radiation-induced chromosome aberrations. *Int J Radiat Biol*, **59**, 1147, 1991.
- 24) Latt SA: Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replimation in human metaphase chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, **70**, 3395, 1973.
- 25) Levan G: Nomenclature for G-bands in rat chromosomes. *Hereditas*, **77**, 37, 1974.
- 26) Goto, Maeda KS, Kano Y, Sugiyana T: Factors involved in differential Giemsa staining of sister chromatids. *Chromosome*, **66**, 351, 1978.
- 27) Bond VP, Easterday OD: Effects of heavy particle radiation on acute mortality and survival time in the mouse. *Radiat Res*, **10**, 20, 1959.
- 28) Casarett AA: Radiation biology. Englewood cliffs: Prentice-Hall.
- 29) Matsubara S: Chromosomal damages in circulating lymphocytes induced by therapeutic irradiation. *Bull Tokyo Med Dent Univ*, **16**, 261, 1969.
- 30) Buch RS: The significance of anemia in clinical radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **12**, 2047, 1986.
- 31) Albaum HG: Serum enzymes following whole-body radiation in the rabbit. *Radiat Res*, **12**, 186, 1960.
- 32) Lu ST, Michaelson SM, Susanne P: Increased serum enzyme activity in microwave-exposed. *Radiat Res*, **96**(1), 516, 1983.
- 33) Elkina NL, Maksutva AY: *Radiobiology*. **23**(4), 516, 1983.
- 34) Sharma T, Das BC: The effect of storage of blood on the yield of X-ray induced chromosome aberrations and spontaneous sister chromatid exchanges. *Int J Radiat Biol*, **45**(2), 151, 1984.
- 35) Bochkov NP, Yakovenko KN, Voskoboynik NI: Dose and concentration dependence of chromosome aberrations on human cells and the combined action of radiation and chemical mutagens. *Cytogenet Cell Genet*, **33**, 42, 1982.
- 36) Guedeney G, Malarbet JL, Doloy MT: Chromosomal aberrations on Cynomolgus peripheral lymphocytes during and after fractionated whole-body r-irradiation. *Int J Radiat Biol*, **55**, 861, 1989.
- 37) Perry P, Evans HJ: Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature*, **258**, 121, 1975.
- 38) Tofilon PJ, Deen DF: BCNU-induced sister chromatid exchanges are increased by X- irradiation. *Radiat Res*, **97**, 171, 1984.
- 39) Grundys S, Varga L, Bender MA: Sister chromatid exchange frequency in human lymphocytes exposed to ionizing radiation *in vivo*, *in vitro*. *Radiat Res*, **100**, 47, 1984.
- 40) Abramosky I, Voranger G, Hirschorn K: Sister chromatid exchange induced by X-ray of human lymphocytes and the effect of L-cysteine. *Mutat Res*, **50**, 93, 1978.
- 41) Wilmer JL, Erexon GL, Kligerman AD: Sister chromatid exchange induction in mouse B-and T-lymphocytes exposed to cyclophosphamide *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res*, **44**, 880, 1984.