

인체말초혈액 림프구와 마우스골수세포에서 중기염색체 분석법과 미소핵검사법을 이용한 방사선적응반응 평가

전남대학교병원 핵의학과, 전남대학교 의과연구소¹

민정준 · 범희승¹ · 이승연 · 최근희 · 정환정 · 송호천 · 김지열¹

Cytogenetic Radiation Adaptive Response Assessed by Metaphase Analysis and Micronuclei Test in Human Lymphocytes and Mouse Bone Marrow Cells

Jung-Jun Min, M.D., Hee-Seung Bom, M.D.,¹ Seung-Yeon Lee, M.D., Keun-Hee Choi, M.D., Hwan-Jeong Jeong, M.D., Ho-Cheon Song, M.D. and Ji-Yeul Kim, Ph.D.¹

Department of Nuclear Medicine, Chonnam University Hospital,

Chonnam University Research Institute of Medical Sciences,¹ Kwangju, Korea

Abstract

Purpose: Radiation adaptive response in human peripheral lymphocytes and mouse bone marrow cells was investigated using both metaphase analysis and micronucleus assay. We assessed the correlation between both tests. **Materials and Methods:** Two groups of the human peripheral lymphocytes and mouse bone marrow cells were exposed to low dose (conditioning dose, 0.18 Gy) or high dose (challenging dose, 2 Gy) γ -rays. The other 4 groups were exposed to low dose followed by high dose after several time intervals (4, 7, 12, and 24 hours, respectively). The frequencies of chromosomal aberrations in metaphase analysis and micronuclei in micronucleus assay were counted. **Results:** Chromosomal aberrations and micronuclei of preexposed group were lower than those of the group only exposed to high dose radiation. Maximal reduction in frequencies of chromosomal aberrations were observed in the group to which challenging dose was given at 7 hour after a conditioning dose ($p < 0.001$). Metaphase analysis and micronucleus assay revealed very good correlation in both human lymphocytes and mouse bone marrow cells ($r = 0.98$, $p < 0.001$; $r = 0.99$, $p = 0.001$, respectively). **Conclusion:** Radiation adaptive response could be induced by low dose irradiation in both human lymphocytes and mouse bone marrow cells. There was a significant correlation between metaphase analysis and micronucleus assay. (Korean J Nucl Med 1998;32:6:525-33)

Key Words: Adaptive response, Low level radiation, Human lymphocytes, Mouse bone marrow cells, Chromosomal aberration, Micronucleus

Received Jan. 19, 1998; revision accepted Nov. 26, 1998
Corresponding Author: Hee-Seung Bom, M.D., Department of Nuclear Medicine, Chonnam University Hospital, 8 Hakdong, Kwangju 501-757, Korea
Tel: (062) 220-5641, Fax: (062) 232-0232
E-mail: hsbom@chonnam.chonnam.ac.kr
※ 이 연구는 1996년도 학술진흥재단 자유공모연구비 지원을 받아 수행되었음.

서 론

전리방사선은 직접 또는 간접적으로 DNA에 손상을 일으키는 것으로 알려져 있고 이는 돌연변이, 염색체 이상, 발암 및 세포사 등으로 표현될 수 있

다.¹⁾ 대장균이 극소량의 alkylating agent에 노출되면 DNA 회복반응이 유도되어 이후에 발생한 급성 alkylation에 의한 손상, 살해 효과, 돌연변이 효과에 내성을 갖게 된다.²⁾ 최근에는 저선량 방사선이 진핵 및 원핵세포에서 증식률을 높이며 식물에서도 적응 반응을 나타낸다는 보고가 있었고,³⁾ 포유동물 체세포에서도 alkylating agent^{4,5)}와 전리 방사선^{6,7)}에 대하여 적응반응이 존재함을 밝혔다. 최근 국내에서도 김 등⁸⁾은 인체 혈액 림프구의 미소핵 검사를 통하여 적응반응을 입증한 바 있다.

적응반응의 기작에 관하여서는 아직 정확하게 밝혀지지 않았지만 DNA 수선기전과 관련이 있는 것으로 알려지고 있다.⁹⁾ 적응반응의 기전을 확인하는데 있어서 문제가 되었던 저선량의 범위에 있어서는 UNSCEAR 1993 보고¹⁰⁾에서 0.5 Gy 이하로 할 것을 결정하였으며, 저선량을 conditioning, inducing, priming 또는 adapting dose로 고선량을 challenging dose로 표기하고 있다. 포유동물 세포에서 적응반응은 주로 유사분열 유도물질로 자극된 인체 말초혈액 T림프구, 골수세포, 정모세포, 착상전 배아세포, 그리고 섬유모세포 등에서 관찰되었다. 이 가운데 특히 인체 림프구나 골수세포에 미치는 저선량 방사선의 영향을 평가하는 방법의 하나로 염색체 이상을 관찰하는데, 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법이 많이 사용되고 있다.

방사선에 의해 유도된 미소핵은 대부분이 염색체 절단에 의해 생긴 염색체 단편이고, 소수에서는 방추사의 결함에 의해 세포분열 후기가 지연된 염색체로 알려져 있는데, 중기염색체 분석법의 반지형 또는 이 중 중심체형 염색체와는 생성기전에 차이가 있다.¹¹⁾ 그동안 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법을 이용하여 방사선 적응반응을 평가한 많은 연구가 있었지만 이 두가지 검사법을 모두 이용하여 방사선 적응반응을 평가하고 서로의 상관관계를 알아본 연구는 아직 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 방사선 적응반응을 연구하는데 많이 사용되는 인체말초혈액 림프구와 마우스골수세포에서 방사선 적응반응을 평가하는데 중기염색체 분석법과 미소핵검사법에 의한 결과를 비교해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 인체 말초혈액 림프구를 이용한 생체의 (in vitro) 실험

1) 실험대상

염색체 이상을 동반하는 유전병이 없는 24세부터 32세 사이의 건강한 사람 5명(평균연령 28 ± 8 세)의 말초혈액을 채취하였다. 이때 채취된 전혈의 응고방지를 위하여 헤파린 처리된 주사기를 사용하였다.

2) 배양 및 방사선 조사

RPMI media 6 ml, 15% 우태아혈청(fetal bovine serum, 이하 FBS) 1 ml, 세포분열 촉진제로서 3% PHA (phytohemagglutinin) 0.1 ml를 담은 튜브를 7 군으로 나누고 여기에 채취한 말초혈액을 10방울(5×10^6 cells/ml)을 섞는다.

방사선 조사는 Cs-137 조사기(central dose rate = 654 Gy/h, Gammacell 3,000 Elan, Nordion, Canada)를 사용하였다. 실험군은 방사선을 조사하지 않은 대조군(1군), 0.18 Gy (2군, conditioning dose)와 2 Gy (3군, challenge dose)를 조사한 단일 조사군, 0.18 Gy 조사 후 각각 4, 7, 12, 24시간 후에 2 Gy로 조사한 군(4~7군)으로 나누었다. 방사선 조사 다음 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

3) 세포채취(harvest)

(1) 중기염색체 분석법

PHA첨가 후 46시간 배양한 다음 colcemid (final concentration: 100 μ /ml)를 첨가하여 중기상태에서 분열을 억제시킨 후 2시간 더 배양하였다. 배양이 끝난 시험관은 1,200 rpm으로 10분간 원심분리한 다음 상층액은 버리고 저장액(0.075M KCl)을 6 ml 씩 각각 분주하고 잘 섞은 후 37°C 수조에서 10분간 방치한다. 고정액 5 ml를 섞고 15분간 냉장보관한 다음 1200 rpm으로 10분간 원심분리하고 상층액을 버리고 다시 고정하는데, 이 과정을 두차례 반복하여 여분의 상층액은 버리고 침전된 cell pellet을 잘 섞은 다음 슬라이드 글라스 위 30 cm 높이에서 한 두 방울 떨어뜨려 고무 퍼지게 하고 공기 중에서 건

조시킨 뒤 Giemsa 용액으로 염색하였다.

(2) 미소핵 검사법

배양 24시간 후에 세포질 분열 억제제인 cytochalasin B 0.1 ml를 각 시험관에 첨가한 다음 호일로 싸서 24시간 더 배양한다. 배양이 끝나면 각 시험관은 1,200 rpm으로 10분간 원심분리하고 상층액 제거 후 저장액(0.075 M KCl)을 6 ml 첨가 후 잘 섞은 다음 37℃ 수조에서 3분간 방치한다. 고정액을 5 ml 섞고 3분간 실온에서 보관한 다음 1,200 rpm으로 10분간 원심분리하고 상층액을 버리고 다시 고정하는데 이 과정을 두차례 반복 후 중기염색체 분석법과 같은 방법으로 슬라이드 표본을 제작한 다음 Giemsa 용액으로 염색하였다.

2. 마우스를 이용한 생체내(in vivo) 실험

1) 실험대상

ICR계 수컷 마우스를 대상으로 하여 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법 모두 7개의 군으로 나누고 각 군당 8마리의 마우스 대퇴골에서 골수를 추출하였다.

2) 방사선 조사 및 골수세포채취

실험군은 인체 림프구를 이용한 생체외 실험과 마찬가지로 총 7군으로 나누었으며 방사선 조사도 Cs-137 조사기를 사용하였다. 방사선을 조사하고 24시간 후에 마우스를 희생시킨 다음 골수를 시험관

에 추출하여 15% FBS가 첨가된 RPMI 배지에 혼합하였다.

(1) 중기염색체 분석법

Colcemid 0.1 ml 첨가하고 2시간 동안 37℃ 수조에 방치한 후 인류 염색체 분석과 같은 방법으로 마우스 염색체를 분석 하였다.

(2) 미소핵 검사법

시험관을 원심분리(1500 rpm, 10분)하고 상층액을 제거 후 잘 섞은 다음 도말하여 슬라이드 표본을 만들고 Wright 염색을 하였다.

3. 현미경 검경 및 계수

1) 중기염색체 검사법

염색된 표본은 현미경하에서 100배의 배율로 관찰하여 핵분열 중기의 세포를 찾아 1,000배로 확대 관찰하였다. 이때 세포당 염색체 수가 46개 전후인지 확인하고 그 숫자가 부족하거나 염색체 밀도가 염색체 이상의 빈도를 판정하기에 부적합한 것은 관찰에서 제외시켰다. 혈액 공여자 또는 마우스의 세포 100개에서 관찰된 반지형과 이 중 중심체형 염색체의 숫자를 계수하고 각 군의 평균치를 서로 비교하였다. 하나의 염색체 중에서 3개 이상의 중심체가 보일 때에는 그 중심체의 수효에서 1을 뺀 횟수만큼을 이 중 중심체형 염색체로 간주하였다. 인체 말초 혈액 림프구나 마우스 골수세포 모두 동일한 방법으

Table 1. Numbers of Unstable Chromosome (UC) in Human Lymphocytes before and after Gamma Irradiation

Group	Number of donors	Conditioning irradiation	Interval	Challenging irradiation	Total number of cells scored	Total number of UC	Average number of UC in 100 cells (mean±S.D.)
1	5	none (control)			500	10	2±1
2	5	0.18 Gy			500	112	22±4
3	5			2 Gy	500	630	126±12
4	5	0.18 Gy	4 h	2 Gy	500	510	102±9
5	5	0.18 Gy	7 h	2 Gy	500	375	75±7*
6	5	0.18 Gy	12 h	2 Gy	500	553	111±10
7	5	0.18 Gy	24 h	2 Gy	500	581	116±9

*, P<0.01 as compared with group 3.

Table 2. Numbers of Micronucleus (MN) in Human Lymphocytes before and after Gamma Irradiation

Group	Number of donors	Conditioning irradiation	Interval	Challenging irradiation	Total number of BNC scored	Total number of MN	Average number of MN in 1,000 BNC (mean±S.D.)
1	5	none (control)			5,000	86	17±1
2	5	0.18 Gy			5,000	146	29±2
3	5			2 Gy	5,000	997	199±5
4	5	0.18 Gy	4 h	2 Gy	5,000	870	174±4
5	5	0.18 Gy	7 h	2 Gy	5,000	503	101±3*
6	5	0.18 Gy	12 h	2 Gy	5,000	930	186±4
7	5	0.18 Gy	24 h	2 Gy	5,000	985	197±4

BNC, binucleated cell; *, p<0.01 as compared with group 3.

Table 3. Numbers of Unstable Chromosomes (UC) in Mouse Bone Marrow Cells before and after Gamma Irradiation

Group	Number of donors	Conditioning irradiation	Interval	Challenging irradiation	Total number of cells scored	Total number of UC	Average number of UC in 100 cells (mean±S.D.)
1	8	none (control)			800	0	0
2	8	0.18 Gy			800	112	26±5
3	8			2 Gy	800	630	123±6
4	8	0.18 Gy	4 h	2 Gy	800	510	103±9
5	8	0.18 Gy	7 h	2 Gy	800	375	64±7*
6	8	0.18 Gy	12 h	2 Gy	800	553	118±11
7	8	0.18 Gy	24 h	2 Gy	800	581	125±9

*, p<0.01 as compared with group 3.

로 하였다.

2) 미소핵 검사법

인체 말초혈액 림프구의 이핵세포 1,000개에서 나타나는 미소핵의 수를 계수하였고, 마우스 골수세포에서는 1,000개 다염성적혈구당 존재하는 미소핵을 계수하였으며 각 군의 평균치를 내어 서로 비교하였다. 인체 말초혈액 림프구의 미소핵의 판정기준은 Countryman과 Heddle¹²⁾의 것을 따랐고, 마우스 골수세포의 미소핵은 Schmid¹³⁾의 기준을 따랐다.

4. 통계분석

인체 말초혈액 림프구나 마우스 골수세포의 중기

염색체 분석법과 미소핵 검사법 모두에서 불안정 염색체와 미소핵의 계수간의 차이는 분산분석으로 하였고, 각 군간의 다중 검정을 위한 사후 검정은 Bonferroni correction을 이용하였으며, p값 0.05 미만을 유의한 차이로 간주하였다. 또한 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법간의 상관분석을 통하여 상관계수를 구하였다.

결 과

1. 인체 말초혈액 림프구를 이용한 생체의 실험

말초혈액을 방사선 조사하였을 때 나타난 불안정 염색체와 미소핵의 빈도를 각각 Table 1과 2에 각각

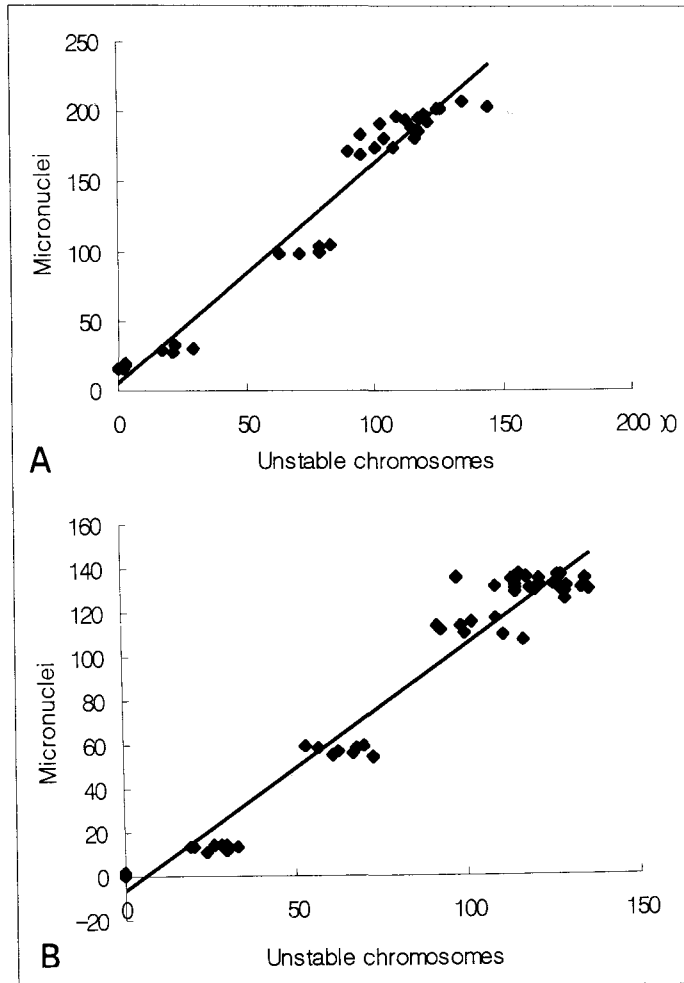


Fig. 1. Metaphase analysis and micronucleus assay revealed very good correlation in both human lymphocytes (A, $r=0.98$, $p<0.001$) and mouse bone marrow cells (B, $r=0.99$, $p=0.001$).

나타내었다. 대조군인 1군과 비교해서 2 Gy를 조사한 3군에서는 불안정염색체와 미소핵이 유의하게 증가하였다($p<0.001$). 저선량방사선을 조사한 후 고선량을 조사한 4, 5, 6, 7군을 3군과 비교했을 때, 저선량 조사 후 7시간 후에 고선량을 조사한 5군에서만 불안정 염색체와 미소핵이 유의하게 감소하였고 ($p<0.001$), 6군과 7군에서는 다시 점차 증가하는 양상을 보였다. 인체 말초혈액 림프구를 이용한 중기 염색체 분석법과 미소핵검사법은 서로 매우 높은 상관관계를 보였다(Fig. 1A, $r=0.98$, $p<0.001$).

2. 마우스 골수세포를 이용한 생체내 실험

방사선으로 전신 조사된 마우스 골수세포에서 유발된 불안정 염색체와 미소핵의 빈도는 Table 3과 4에 각각 나타내었다. 대조군인 1군에 비해 2 Gy를 조사한 3군에서는 불안정 염색체와 미소핵이 유의하게 증가하였다($p<0.001$). 저선량방사선을 조사한 후 고선량을 조사한 4, 5, 6, 7군을 3군과 비교했을 때, 저선량 조사 후 7시간 후에 고선량을 조사한 5군에서만 불안정 염색체와 미소핵이 유의하게 감소하

Table 4. Numbers of Micronucleus (MN) in Mouse Bone Marrow Cells before and after Gamma Irradiation

Group	Number of donors	Conditioning irradiation	Interval	Challenging irradiation	Total number of PCE scored	Total number of MN	Average number of MN in 1,000 PCE (mean±S.D.)
1	8	none (control)			8,000	8	1±1
2	8	0.18 Gy			8,000	104	13±1
3	8			2 Gy	8,000	1,048	131±3
4	8	0.18 Gy	4 h	2 Gy	8,000	896	112±3
5	8	0.18 Gy	7 h	2 Gy	8,000	456	57±2*
6	8	0.18 Gy	12 h	2 Gy	8,000	1,050	131±3
7	8	0.18 Gy	24 h	2 Gy	8,000	1,064	133±3

PCE, polychromatic erythrocyte; *, $p < 0.01$ as compared with group 3.

였고($p < 0.001$), 6군과 7군에서는 다시 점차 증가하는 양상을 보였다. 인체 말초혈액 림프구를 이용한 중기염색체 분석법과 미소핵검사법은 서로 매우 높은 상관관계를 보였다(Fig. 1B, $r = 0.99$, $p < 0.001$).

고 찰

본 연구에서는 G_0 상태의 인체 말초 혈액 림프구에 저선량(0.18 Gy)과 고선량(2.0 Gy)의 방사선을 일정 시간 간격으로 각각 조사한 후 중기염색체 중 불안정 염색체와 미소핵의 발생빈도를 조사하여 림프구에서 저선량 방사선에 의해 적응반응이 유도되는지 관찰하고, 특히 저선량과 고선량 조사 몇시간 간격에서 적응반응이 가장 유의하게 나타나는지 관찰하였다. 또한, 생체 내에서도 적응반응이 유도되는지를 확인하기 위해 본 실험실에서 사육하고 있는 ICR계 마우스를 생체의 실험과 같은 방법으로 방사선 조사한 다음 골수세포에서 중기염색체와 미소핵을 관찰하였다. 생체의 실험과 생체내 실험 모두에서 시행한 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법의 실험결과를 토대로 두 검사법간에 어느 정도의 상관관계가 있는지를 분석하였다.

인체의 림프구에서 적응반응이 유도된다는 사실은 1984년 Olivieri 등⁶⁾에 의해 처음으로 보고되었는데, 그것은 인체의 림프구를 H-3 thymidine으로 처리한 후 G_2 시기에 150 rad의 X선을 조사한 군에서 X선만 단일조사한 군에 비해 염색분체 이상이

감소함을 입증한 연구였다. 그 후 Shadley 등¹⁴⁾은 G_0 상태의 1차 조사에 의해서는 적응반응이 유도되지 않는다고 보고한 반면에 Cai 등¹⁵⁾은 G_0 , G_1 , S, G_2 기 모두에서 적응반응이 유도된다는 상반된 결과를 보고하였다. 중기염색체 분석법 외에도 G_0 상태의 세포에서 방사선에 의한 염색체의 변화를 관찰할 수 있는 방법으로 미소핵 검사법이 있는데 중기염색체 분석법에 비해 방법이 비교적 간단하여 빠른 시간내에 결과를 관찰할 수 있는 방법이다.¹⁶⁾ 국내에서는 김 등⁸⁾이 미소핵 검사법을 이용하여 인체말초혈액 림프구에 저선량(0.01 Gy)과 고선량(1.5 Gy)을 조사한 결과 G_0 상태에서 적응반응이 유도되었음을 보고한 바 있다. 본 연구에서는 인체 림프구를 배양 시작할 때 PHA 첨가와 방사선 조사를 시행했는데 PHA가 유사분열을 일으키기 위해서는 약 24시간이 소요되므로 G_1 기에 들어가기 전, 즉 G_0 상태에서 저선량과 고선량을 조사하였다. 중기염색체 분석법과 미소핵검사법 모두에서 적응반응이 유도됨을 알 수 있었고, 저선량 조사 후 4간짜에 고선량을 조사한 군에서 불안정 염색체와 미소핵의 빈도가 감소하기 시작하여 7시간 군에서 유의한 차를 나타냄을 관찰하였다. Shadley 등¹⁴⁾은 저선량 조사 후 4~6시간 사이에 DNA 수선이 일어나기 때문에 적응반응을 유도하기 위해서는 저선량 조사 후 최소한 4시간이 필요하다고 보고하였고, Ikushima 등¹⁷⁾도 저선량 조사 후 4시간 이전에는 방사선 적응반응이 일어나지 않음을 보고한 바 있다.

적응반응을 확인하기 위해 생체내 실험을 한 보고도 많다.¹⁸⁻²⁰⁾ Lui 등¹⁸⁾은 토끼를 이용한 생체내 실험을 통하여 적응반응이 유도됨을 보고하였고, Lu 등¹⁹⁾은 전신조사된 마우스 골수세포에서 적응반응이 유도됨을 보고하였다. 본 연구에서도 마우스를 전신조사한 후 분열 중에 있는 골수세포를 모아 중기염색체에서 불안정 염색체의 빈도를 관찰하고 다염성적혈구 내에 나타나는 미소핵을 계수하여 간기와 분열 시기에 있는 세포에서 모두 저선량 방사선에 의해 적응반응이 유도됨을 알 수 있었고, 체외 실험과 마찬가지로 저선량과 고선량 사이의 시간간격이 4시간 째에서부터 적응반응이 유도되고 7시간 째에 가장 유의한 차이를 나타냄을 확인했다.

본 연구에서는 저선량 조사 후 12시간 후에 고선량을 조사한 군에서는 염색체 이상의 빈도가 점점 증가하여 24시간 째에 고선량을 주사한 군에서는 고선량 단일 조사군과 비슷한 빈도를 보임을 알 수 있다. Shadley 등²¹⁾은 인체 말초혈액 림프구에서는 방사선에 대한 적응반응이 3회의 세포주기에 걸쳐 지속된다고 보고했고, 그밖의 연구결과^{15,22)}에서도 24시간 이후까지 적응반응을 나타내는 것으로 보고하고 있다. 이들 연구와 비교할 때 방사선조사시 세포주기의 차이가 있을 수도 있고, 불안정 염색체나 미소핵의 확인에서의 차이에 의한 것일 수도 있을 것으로 생각된다.

생체의 실험이나 생체내 실험에서 미소핵 검사법은 중기염색체 분석법에 비해서 비교적 간단하며 빠른 시간내에 결과를 관찰할 수 있는 장점이 있다.^{12-13,16)} Vral 등¹¹⁾은 방사선에 의한 미소핵은 두가지의 기전에 의해 유도된다고 보고했다. 대부분은 염색체의 절단에 의해 생성된 염색체 단편이고, 소수에서는 방사선에 의해 방추사가 손상되어 세포분열 후기가 지연된 염색체이다. 미소핵의 생성기전이 반지형 염색체나 이 중 중심체형 염색체와는 다르므로 두 검사법간의 상관관계를 분석을 하는 것이 향후 연구에 도움이 되리라 사료되었다. 본 연구에서는 생체의 실험이나 생체내 실험 모두에서 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법을 시행한 결과 두 검사 방법은 매우 상관관계가 높은 것을 알 수 있었다. 결국, 방사선에 의한 염색체 손상을 분석하고자 할 때

방법이 간편한 미소핵 검사를 사용하여도 중기 염색체 분석법과 같은 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

결론적으로, 인체 말초혈액 림프구에 저선량 방사선을 조사하고 4, 7, 24시간 후에 고선량을 조사하여 염색체 이상을 관찰한 결과 유사분열이 시작되기 전, 즉 G₀ 상태에서 적응반응이 유도됨을 관찰하였고, 마우스 골수세포에서는 분열 중에 있는 세포에서 적응반응이 유도됨을 알 수 있었으며, 저선량을 조사하고 7시간 후에 고선량을 조사하였을 때 적응반응이 가장 유의하게 나타났다. 이런 결과는 생체내, 외 실험을 통하여 동시에 확증되었고 또한 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법은 매우 상관관계가 높은 검사법으로 방사선에 의한 염색체 손상을 분석할 때 어느 방법을 사용하여도 같은 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각하였다.

요 약

목적: 인체 말초혈액 림프구와 마우스의 골수세포에서 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법을 각각 실시하여 저선량 방사선에 의한 적응반응이 몇시간 째에 가장 유의하게 나타나는지 알아보고, 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법간에 서로 상관관계를 분석하였다. **대상 및 방법:** 건강한 비흡연자의 말초혈액과 ICR계 수컷 마우스 56마리를 대상으로 하였고, Cs-137 조사기를 이용하여 방사선을 조사하였다. 인체 말초혈액 림프구의 중기염색체 분석법은 세포 100개당 불안정 염색체인 반지형과 이 중 중심체형 염색체의 숫자를 계수하였으며, 미소핵 검사법은 이 핵세포 1,000개에서 나타나는 미소핵의 수를 계수하였다. 마우스 골수세포는 마우스의 대퇴골에서 추출한 후 중기염색체 분석법에 의해 불안정 염색체인 반지형과 이 중 중심체형 염색체의 숫자를 같은 방법으로 계수하였으며, 미소핵 검사법은 마우스 골수세포의 미성숙적혈구 1,000개에서 나타나는 미소핵의 수를 계수하였다. 대조군은 방사선을 조사하지 않은 군이며, 실험군은 0.18 Gy 및 2 Gy 단일조사군, 0.18 Gy 조사 후 4, 7, 12, 24시간 후에 다시 2 Gy를 조사한 군으로 나누었고 각각의 군에서 두 검

사법의 상관관계를 분석하였다. **결과:** 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법 모두에서 저선량방사선을 조사한 후 7시간째에 고선량을 조사한 군에 적응반응이 가장 유의하게 나타남을 알 수 있었다. 또한 중기염색체 분석법과 미소핵검사법은 인체 말초혈액 림프구를 이용한 실험($r=0.98$, $p=0.001$)과 마우스 골수세포를 이용한 실험($r=0.99$, $p<0.001$) 모두에서 매우 높은 상관관계를 보였다. **결론:** 방사선에 대한 적응반응이 생체내, 외 실험을 통하여 동시에 확증되었고, 저선량 조사 후 4시간 이후에 시작되어 7시간째에 가장 높은 효과를 나타내는 것으로 보인다. 또한 중기염색체 분석법과 미소핵 검사법은 인체 말초혈액 림프구나 마우스 골수세포를 이용한 실험 모두에서 매우 높은 상관관계가 있음을 알 수 있었고, 방사선에 의한 염색체 손상을 분석하고자 할 때 방법이 간편한 미소핵 검사를 사용하여도 중기 염색체 분석법과 같은 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

- 1) Strauss BA. Molecular biology of the response of cells to radiation and to radiomimetic chemicals. *Cancer* 1977;40:471-80.
- 2) Samson L, Cairns J. A new pathway for DNA repair in Escherichia coli. *Nature* 1977;267:281-3.
- 3) Cortes F, Dominguez I, Mateos S, Pinero J, Mateos JC. Evidence for an adaptive response to radiation damage in plant cells conditioned with X-rays or incorporate tritium. *Int J Radiat Biol* 1990;57:537-41.
- 4) Samson L, Schwartz JL. Evidence for an adaptive DNA repair pathway in CHO and human skin fibroblast cell lines. *Nature* 1980;287:861-3.
- 5) Kaina B. Enhanced survival and reduced mutation and aberration frequencies induced in V79 chinese hamster cells pre-exposed to low level of methylating agents. *Mutat Res* 1982;93:195-211.
- 6) Olivieri G, Bodycote J, Wolff S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine. *Science* 1984;223:594-7.
- 7) Ikushima T. Chromosomal responses to ionizing radiation reminiscent of an adaptive response in cultured Chinese hamster cells. *Mutat Res* 1987; 180:215-21.
- 8) Kim JH, Lee KJ, Cho CK, Yoo SY, Kim TH, Kim SH. Adaptive response induced by low dose ionizing radiation in human lymphocytes. *J Korean Asso Radiat Prot* 1995;20:97-102.
- 9) Hughes EN, Boothman DA. Effect of caffeine on the expression of a major X-ray induced protein in human tumor cells. *Radiat Res* 1991;125:313-7.
- 10) United Nations. Sources and Effect of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. 1993 report to the General Assembly with scientific annexes. United Nations sales publication E.94IX.2. United Nations, New York
- 11) Vral A, Thierens H, Ridder LD. In vitro micronucleus-centromere assay to detect radiation-damage induced by low doses in human lymphocytes. *Int J Radiat Biol* 1997;71:61-8.
- 12) Countryman PI, Heddle JA. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat Res* 1976;41:321-32.
- 13) Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res* 1975;31:9-15.
- 14) Shadley JD, Afzal V, Wolff S. Characterization of the adaptive response to ionizing radiation induced by low doses of X rays to human lymphocytes. *Radiat Res* 1987;111:511-7.
- 15) Cai L, Lui SZ. Induction of cytogenetic adaptive response of somatic and germ cells in vivo and in vitro by low-dose X-irradiation. *Int J Radiat Biol* 1990;58:187-94.
- 16) Muller WU, Streffer C. Biological indicators for radiation damage. *Int J Radiat Biol* 1991;59:863-73.
- 17) Ikushima T. Chromosomal response to ionizing radiation reminiscent of an adaptive response in cultured Chinese hamster cells. *Mutat Res* 1987; 180:215-21.
- 18) Liu SZ, Cai L, Sun SQ. Induction of cytogenetic adaptive response by exposure of rabbits to very low dose-rate gamma-radiation. *Int J Radiat Biol* 1992;62:187-90.
- 19) Lu C, Meng QY. Studies on the induction of cross-resistance by low dose radiation or by low concentration of chemicals. *Biomed Environ Sci* 1994;7:241-7.
- 20) Feinendegen LE. Radiation risk of tissue late

- effects, a net consequence of probabilities of various cellular responses. *Eur J Nucl Med* 1991; 18:740-51.
- 21) Shadley JD, Wolff S. Very low doses of X-rays can cause human lymphocytes to become less susceptible to ionizing radiation. *Mutagenesis* 1987;2:95-6.
- 22) Wiencke JK, Afzal V, Olivieri G, Wolff S. Evidence of the [³H] thymidine-induced adaptive response of human lymphocytes to subsequent doses of X-rays involves the induction of a chromosomal repair mechanism. *Mutagenesis* 1986;1:375-80.
-