예방의학회지 제33권 제2호(2000년 6월)
Korean J Prev Med 2000;33(2):165-173

# 저선량 방사선 노출에 대한 생물학적 지표로서 Glycophorin A 변이발현율 측정의 유용성 평가

하미나, 유근영[1], 하성환[2], 김동현[3], 조수헌[1]

단국대학교 의과대학 예방의학교실, 서울대학교 의과대학 예방의학교실 및 의학연구원 환경의학연구소[1],
서울대학교 의과대학 치료방사선과학교실[2], 단국대학교병원 산업의학과[3]

## Assessment of the Glycophorin A Mutant Assay as a Biologic Marker for Low Dose Radiation Exposure

Mina Ha, Keun-Young Yoo[1], Sung Whan Ha[2], Dong-Hyun Kim[3], Soo-Hun Cho[1]

Department of Preventive Medicine, Dankook University College of Medicine;
Department of Preventive Medicine[1], Department of Therapeutic Radiology[2], Seoul National University College of Medicine;
Institute of Environmental Medicine, SNUMRC[1]; Department of Occupational Medicine, Dankook University Hospital[3]

**Objectives :** To assess the availability of the glycophorin A (GPA) assay to detect the biological effect of ionizing radiation in workers exposed to low-doses of radiation.

**Methods :** Information on confounding factors, such as age and cigarette smoking was obtained on 144 nuclear power plant workers and 32 hospital workers, by a self-administered questionnaire. Information on physical exposure levels was obtained from the registries of radiation exposure monitoring and control at each facility. The GPA mutant assay was performed using the BR6 method with modification by using a FACScan flow cytometer.

**Results :** As confounders, age and cigarette smoking habits showed increasing trends with GPA variants, but these were of no statistical significance. Hospital workers showed a higher frequency of the GPA variant than nuclear power plant workers in terms of the NO variant. Significant dose-response relationships were obtained from in simple and multiple linear regression models. The slope of the regression equation for nuclear power plant workers was much smaller than that of hospital workers. These findings suggest that there may be apparent dose-rate effects.

**Conclusion :** In population exposed to chronic low-dose radiation, the GPA assay has a potential to be used as an effective biologic marker for assessing the bone marrow cumulative exposure dose.

**Korean J Prev Med 2000;33(2):165-173**

**Key Words:** Low-dose ionizing radiation, Somatic mutation, Glycophorin A mutation, Dose-response relationship

## 서 론

고선량 전리방사선이 인체에 암을 비롯한 각종 건강영향을 일으킨다는 사실은 히로시마나 나가사키의 원폭 피해자들에 대한 연구를 통해 과학적으로 입증되어 있으나, 저선량 전리방사선 노출이 인체에 어떠한 건강영향을 일으킬 것인가에 대해서는 아직도 많은 이견이 있다. 한편, 저선량 방사선 노출의 인체 영향을 규명하는데 생물학적 지표를 활용할 경우, 고전적인 역학적 연구를 통해 밝혀내기 어려운 조기의 건강영향을 발견할 가능성이 있다. 노출에 관한 생물학적 지표는 직업적인 방사선 노출 집단에 있어서, 개인적인 선량계를 통해 측정된 물리적 선량과는 달리 인체 내에서 실제로 건강영향을 일으키는 데에 관여하는 생물학적 선량(biodosimetry)을 나타내 준다는 점에서, 물리적인 선량을 보완할 수 있을 뿐 아니라 개인적인 선량 측정이 이루어지지 않은 경우에 대체하여 노출량에 관한 정보로 사용할 수 있다.

일반적으로 생물학적 지표에는 생물체 내에서 일어나는 생화학적, 분자적, 유전적, 면역학적 혹은 생리적인 현상의 표식자들 모두가 포함될 수 있다(NRC, 1987). 좋은 생물학적 지표가 되기 위해서는 노출 후 시간 경과에 따라서도 변하지 않는 누적 노출량을 반영할 수 있어야 하며, 특이적이고도 민감한 것이어야 한다. 전리방사선에 대한 생물학적 지표에 관한 연구는 주로 2차 세계대전 후 히로시마, 나가사키에서의 원자폭탄 피해자들에 대한 조사를 통해서 축적되어 왔다. 노출량에 대한 생체지표의 하나인 사람 임

접수 : 2000년 1월 12일, 채택 : 2000년 3월 21일
본 연구는 한국과학재단 핵심전문연구(과제번호 981-0715-115-2)의 연구비 지원으로 수행되었음.
교신저자 : 조수헌 (서울대학교 의과대학 예방의학교실, 전화번호 : 02-740-8323, 팩스번호 : 02-740-8328, e-mail : chosuh@snu.ac.kr)

파구의 $G_0$단계에서 염색체의 이상 빈도를 양적으로 측정하는 것은 생물학적 노출측정의 가장 좋은 방법으로 알려져 있다(Lloyd et al., 1987; Littlefield et al., 1989). Hypoxanthine phosphoribosyl transferase(HPRT) 자리에서 유전자 돌연변이를 보는 방법은 사람에서의 변이원성에 관하여 가장 많은 연구가 이루어져 온 분야 중 하나인데, 이 지표는 히로시마와 나가사키의 원폭 피해자들에서 적용하였을 때 노출 후 시간이 경과함에 따라 변이가 점점 줄어 들어 과거 오랜 기간동안의 노출을 반영하지 못한다는 단점이 보고된 바 있다(Nicklas et al., 1986). 그 외의 분자유전학적 방법으로 사람의 T 임파구에서 상염색체 HLA-A 자리의 돌연변이를 보는 것은 원폭 피해자들에서 시도해서 유의한 결과를 얻지 못하였다(Akiyama et al., 1995). 기타 T 임파구의 항원 수용체의 돌연변이를 보거나 $\beta$-globin 자리의 돌연변이를 측정하는 방법이 있으나, 민감한 방법이 되지 못하고 있다.

전리방사선의 생체지표 중 하나로서 MN 혈액형 적혈구의 표면에 있는 항원 단백질인 Glycophorin A 유전자의 돌연변이나 4 번 염색체의 소실을 보는 방법은 히로시마, 나가사키 원폭 피해자들에서 과거의 총 방사선 노출량과 잘 일치하는 선량-반응 관계를 나타내었다(Kyoizumi et al., 1989).

본 연구는 비교적 최근에 개발된 체세포 변이 빈도를 측정하는 방법의 하나인 glycophorin A 변이 발현 측정 방법을 구축하고, 이를 환경적 및 직업적으로 건강영향이 의심되고 있는 저선량의 전리방사선 노출 집단에 적용하여, 저선량 전리방사선 노출의 생물학적 지표로서 활용할 가능성을 평가하고자 하였다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 연구 대상

총 연구대상자 176명 중 32명은 대학병원내 방사선 관련 작업 종사자들로서, 진단방사선과, 핵의학과 그리고 치료 방사선과의 의사, 간호사 및 기사들이었다. 144명은 원자력 발전소에 근무하는 근로자들이었다. 이들은 모두 혈액형이 MN 형이었다. 평균연령은 35.2세(병원 종사자)와 38.4세(원자력 발전소 근로자)였고, 병원 종사자 중 5명을 제외한 나머지 171명은 모두 남자였다(표 1).

### 2. 연구재료 및 방법

#### 1) 설문조사

연구대상자에 대하여 연령, 성, 직업력을 포함하여 교란변수들에 대한 정보를 얻기 위하여 설문조사를 실시하였다. 교란변수에는 흡연력, 음주력, 과거 및 현재 병력, 가족력 및 약물 복용력과 방사선 치료 경험 유무 등을 포함시켰다. 조사방식을 자기 기입식으로 한 설문지는 본 연구를 위하여 자체 제작하였다. 설문에 소요되는 시간은 5~10분이었고, 한 페이지에 걸쳐 총 10문항으로 구성되었다.

#### 2) 전리방사선 노출량 정보

모든 연구대상자는 각 기관에서 작업시간 중에 필름배지(film badge) 나 TLD를 부착하고 작업을 하였고, 이를 통해 모니터링된 개인별 방사선량 기록을 노출량 정보로 이용하였다. 이들 노출량은 개개인별로 최근 1년, 최근 2년 및 5년 동안의 노출량과 총 근무기간동안의 총 누적 노출량으로 계산하여 사용하였다.

#### 3) Glycophorin A 변이 발현율 측정

본 연구에서 사용한 Glycophorin A 변이 빈도의 측정법은 Langlois 등(1990)이 개발한 BR6 방법에 약간의 변형을 가하여 사용하였다(Jensen et al., 1996). 단일클론 항체에 두 가지 형광물질을 각각 표지하여 사용하였는데, N 단백질에 대해서는 BRIC-157-F를, M 단백질에 대해서는 6A7 단일클론 항체를 구입하여 사용하였다(IBGRL, International Blood Group Referenced Laboratory). BRIC-157-F는 BRIC-157 항체에 이미 형광물질이 부착되어 있는 제품이었다. 6A7은 우선 biotin을 부착한 다음, streptavidin-phycoerythrin을 부착하여 사용하였다. 정상적인 적혈구 중에서 변이종 세포의 수를 세는 것은 flow cytometer(FACScan, Becton Dickinson)을 이용하였고, 작동 프로그램은 Consort-II(Hewlette Packard)를 사용하였다. 측정법의 전체 과정은, 우선 적혈구를 고정하는 단계, 단일클론 항체를 정제하고 형광물질을 부착시키는 단계, 그리고 flow cytometer로 세포의 수를 세는 단계로 구성되었다.

(1) 적혈구의 고정(Erythrocyte Fixation)

10㎖의 conical tube에 9.7㎖의 Isolyte S 용액, 0.3㎖의 37% formaldehyde 용액, 20 ㎕의 SDS를 첨가하였다. 1.5㎖ 짜리 Eppendorf tube에 전혈 100㎕과 1㎖의 Isolyte S 용액, 10㎕의 SDS, 20㎕의 BSA를 첨가하고 파스퇴르 파이펫으로 잘 섞은 후, 이것을 앞서 준비한 conical tube에 넣고 잘 섞었다. 1시간 30분정도를 방치한 다음 0.8㎖의 37% formaldehyde 용액을 첨가하고 상온에서 하룻밤 동안 방치한 용액을 1000 g에서 1분동안 원심분리 하여 상층액을 제거하는 과정을 2번 반복하였다.

(2) 형광 항체의 적혈구 부착

1.5㎖의 sample buffer에 세포 부유용액 150㎕를 넣고 60㎕의 항-M 항체와 2 ㎕의 항-N 항체를 넣은 후 빛을 차단한 상태에서 1시간동안 흔들었다. 3㎖의 sample buffer를 넣고, 1000 g에서 3분간 원심분리 한 후 상층액을 제거하는 과정을 2번 반복하였다. 이후 sample buffer를 4.5㎖를 넣고 다시 풀었다. 1000 g에서 3분 동안 원심분리 하였다. 여기에 60㎕의 St-Av-Pe를 넣고 빛을 차단한 상태에서 1시간동안 흔들어 준 다음, 원심분리 및 상층액 제거 과정을 2번 반복하고 마지막에 3㎖의 sample buffer를 넣었다.

(3) Flow cytometry

Flow cytometer 상에서 각 세포마다 4가지 변수, FSC(forward light scatter), SSC(side light scatter), FL1(fluorescein fluorescence), FL2(phycoerythrin fluorescence)를 측정하였다. 각 세포는 초당 약 3,000 ~ 4,000개의 세포가 흘러가는 속도로, FL1과 FL2의 두축으로 된 창에서 측정하였다. 각 시료마다 총 $4\times10^6$ 개의 세포를 분석하였고 시료당 평균 분석시

간은 약 30분이었다. 변이 빈도는 다음과 같은 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Variant frequency} = \frac{\text{the number of events in the variant windows}}{\text{the total number of scatter-gated events in the flow distribution}}$$

이때 각 시료마다 나타날 수 있는 미미한 항체부착의 차이를 보정해 주기 위하여, 변이 세포가 출현하는 창의 위치를 각 분석 때마다 MN peak의 위치에 맞추어서 정하였다. 즉 변이 세포가 출현하는 창의 위치를 NO의 경우는 N 이형질의 0.6-1.4배의 수준으로, NN 의 경우는 1.5-3.2배의 수준으로 설정하였다. 이러한 창 설정 기준은 Langlois 등(1990)의 방법에 따랐다.

### 3. 통계적 분석 방법

연령과 흡연이 미치는 영향을 보기 위하여, 연령에 대해서 변이빈도의 회귀식을 얻었고 흡연에 대해서는 흡연군과 비흡연군의 변이빈도의 평균값을 비모수적 기법인 Wilcoxon rank sum test를 통하여 비교하였다.

각 연구대상 집단별로 평균 변이발현율을 계산하고 비교하였다. 지나치게 높은 변이 발현율을 나타낸 경우, 즉 소위 '특이점'에 대한 정의는 Bigbee 등(1997)이 사용한 NO 혹은 NN에서 $10^6$개의 적혈구 당 30개 이상의 변이세포가 나타나는 경우로 정하였다. 본 연구대상자 중에서는 원전 근로자 2명이 이에 해당하였다. 노출된 전리방사선의 선량과 변이 발현율과의 양-반응 관계를 살펴보기 위하여 일반선형 모델(generalized linear regression)을 이용하여 회귀분석을 하였다. 회귀분석은 전체 대상자, 병원 종사자 그리고 원전 근로자 각각에서 시행하였고 이들 기울기의 차이를 통계적으로 검정하였다. 또 기존의 연구에서 glycophorin A 변이발현율 측정법의 한계선이라고 제기되어온 총 누적 노출량 10mSv 이하의 집단에 대해서도 회귀분석을 시행하였다.

본 연구에서 구축한 glycophorin A 변이 발현율을 측정하는 실험 방법의 신뢰도를 평가하기 위하여 7명의 연구대상자에 대하여 2-3일의 간격을 두고 반복적으로 glycophorin A 변이 발현율을 측정하고 두 값 사이의 상관관계를 분석하였다.

## 연구결과

총 근무기간에서 원전 근로자들의 경우 13.85년(166.2 개월), 병원종사자들의 경우는 9.09년(109.1개월)이 평균값으로서, 병원종사자들이 원자력 발전소 근로자들에 비하여 유의하게 근무기간이 짧았다. 흡연율은 병원 종사자 59%, 원전 근로자 51%로서 두 근로자 집단이 비슷하였고 반이상의 근로자가 현재도 계속 흡연을 하고 있는 것으로 나타났다. 음주력이나 과거병력, 가족력 등에서도 비슷한 분포를 나타냈다(표 1).

병원 종사자 및 원전 근로자에서 최근 1년 동안의 누적 노출량이 방사선 노출 관리기준인 20 mSv를 넘는 경우는 없었다. 노출량의 분포는 한쪽으로 심하게 치우친 모양을 하고 있었다(그림 1), 원자력 발전소 근로자의 경우 총 누적 노출량의 산술평균이 20.89 mSv(표준편차 27.66)이었고, 병원 종사자의 경우 9.15 mSv(표준편차 12.88)이었다. 최근 1년, 최근 2년 그리고 최근 5년의 누적 노출량에서는 병원종사자가 오히려 원자력 발전소 근로자에 비하여 통계적으로 유의하게 높은 노출량을 보인 반면, 총 누적 노출량에서는 원자력 발전소 근로자가 유의하게 높은 노출량을 보였다(표 2).

연령에 대한 회귀분석의 결과, 연령이 증가함에 따라 변이 발현율이 증가하는 양상을 보였으나 기울기의 크기는 매우 작았다. NO에서는 0.061이었고, NN에서는 0.131이었는데 이 값들은 통계적으로 유의하지 않았다(그림 2).

흡연의 영향은 흡연군에서 비흡연군에 비하여 변이 발현율의 평균값이 더 높은 양상을 나타냈다(그림 3). 흡연군에서 NO 의 기하평균은 2.21이었고, 비흡연군에서 1.18이었으며, NN의 경우 흡연군 4.73, 비흡연군 2.72이었으나 통계적인 유의성은 없었다.

병원 종사자와 원전 근로자 각각의 직업군에서 변이 발현율을 살펴 본 결과, NO 의 경우에는 원전 근로자에 비하여 병원 종사자들이 높은 값을 나타내었다. $10^6$개의 적혈구 세포 당 평균 변이 세포 발현율이 원전근로자에서 1.38개, 병원 종사자들은 3.35개이었다. NN의 경우에는 두 직업군에서 큰 차이가 없었다(표 3).

특이점을 제외한 분석에서 단순 회귀모형 및 다중 회귀 모형 모두에서 NO와의 관계에서 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 나타내었다. 기울기의 크기는 0.0181(단순), 0.0192(다중)이었다(그림 4, 표 4).

**Table 1.** General characteristics of the study subjects

| Variables | | Nuclear workers | Hospital workers | p-value |
|---|---|---|---|---|
| No. of subjects | | 144 | 32 | |
| Tenure(Months) | Mean±SD | 166.2±75.7 | 109.1±80.2 | <0.05* |
| Age(years) | Mean(range) | 38.4(26-56) | 35.2(27-50) | <0.05† |
| Sex | Male | 144 | 27 | <0.05† |
| | Female | 0 | 5 | |
| Smoking | No | 70 | 13 | |
| | Yes | 74 | 19 | |
| | No | 32 | 8 | |
| Alcohol Drinking | Yes | 112 | 23 | |
| | No | 136 | 29 | |
| Past Medical History | Yes | 8 | 3 | |
| | No | 120 | 30 | |
| Family History of cancer | Yes | 24 | 2 | |

* $p < 0.05$ based on t-test  † $p < 0.05$ based on Analysis of Variance  † $p < 0.05$ based on $X^2$-test

**Table 2.** Radiation exposure doses of the study subjects (unit : mSv)

| | | Nuclear workers | Hospital workers |
|---|---|---|---|
| No. of subjects | | 144 | 32 |
| Recent 1 year | mean* | 0.66±1.65 | 1.30±2.37 |
| | median | 0 | 0.19 |
| | range | 0-11.64 | 0-8.72 |
| Recent 2 year | mean* | 1.77±3.59 | 1.81±2.61 |
| | median | 0.11 | 0.51 |
| | range | 0-27.52 | 0-8.72 |
| Recent 5 year | mean* | 3.59±5.32 | 4.50±4.32 |
| | median | 0.82 | 3.69 |
| | range | 0-27.52 | 0.02-22.13 |
| Total cumulative | mean* | 20.89±27.66 | 9.15±12.88 |
| | median | 9.29 | 4.32 |
| | range | 0-120.21 | 0.02-67.87 |

* $p<0.05$ based on Wilcoxon rank sum test

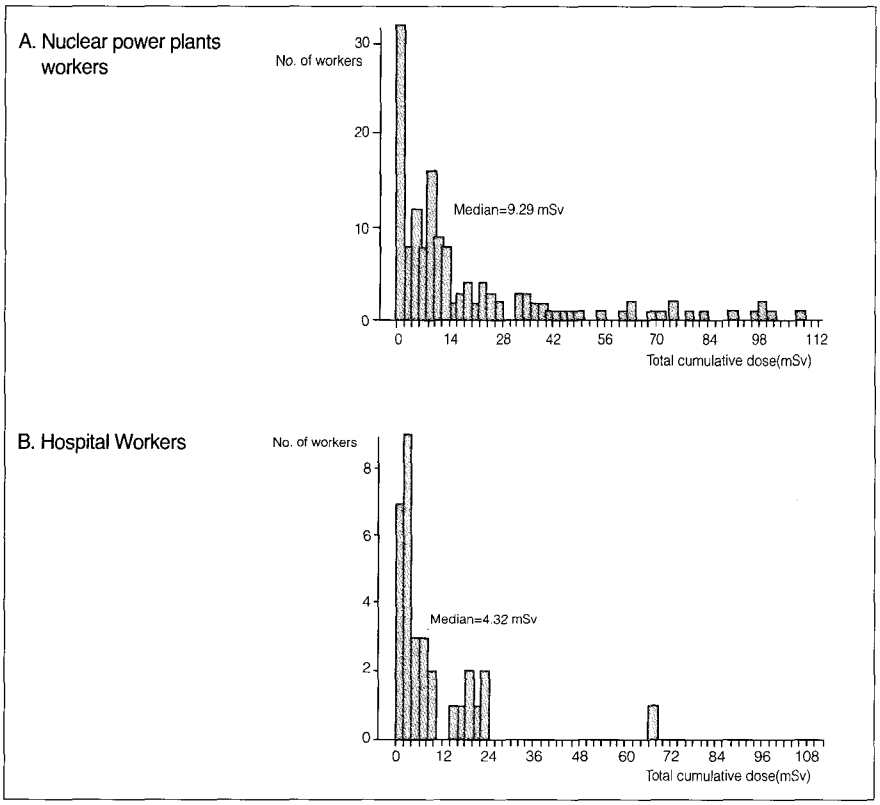


**Figure 1.** Distribution of the reported physical doses(total cumulative dose).

또 원전 근로자에서의 선량-반응 관계는 NO와 NN 모두에서 통계적으로 유의하였고, 그 크기는 각각 0.0175 및 0.0034이었다. 병원 종사자 역시 NO와 NN 모두에서 통계적으로 유의하였으며, 그 크기는 각각 0.1881과 0.2332이었다(그림 5). 원전 근로자와 병원 종사자에서의 선량-반응 관계의 크기는 NO와 NN 모두에서 통계적으로 유의한 차이가 있었다 ($p=0.001$, $p=0.0631$).

총 누적 노출량이 10mSv이하인 집단에서만 따로 분석한 경우 유의한 선량-반응관계를 보이지 않았다.

동일 대상에서 두 번씩 측정한 변이 빈도의 값들이 나타낸 상관계수는 NO의 경우 0.8818로 비교적 높은 상관관계를 보였으며, 통계적으로도 유의하였다. 그러나 NN의 경우 상관계수가 0.5585이면서 통계적으로도 유의하지 않았다.

## 고 찰

Glycophorin A는 사람의 적혈구 표면에 있는 glycoprotein이며, 세포당 약 $9\times10^5$ 개가 존재한다(Blanchard 와 Dahr, 1994). 유전자는 염색체 4번 장완에 있으며, M과 N 의 두 대립형질체가 있는데 둘 사이에는 단 2개의 아미노산 가지만 제외하면 분자구조에 차이가 없다. 이 단백질의 기능은 알려져 있지 않으며, 여기서 돌연변이가 발생하였다고 하여도 인체는 정상적인 적혈구의 기능을 가지고 있으므로, 장애를 유발한다고 판단되지 않는다. 기술적인 문제로 인하여 이 단백질의 변이 발현율 측정은 MN 혈액형인 사람에서만 적용 가능한데, 일반적으로 인종과 관계없이 약 반수의 사람이 이에 해당한다. 이 측정방법은 골수 원형 세포(progenitor cell)의 glychophorin A 유전자에서 일어난 손상을 말초 적혈구에서 나타나는 체세포 변이의 수준에서 측정하는 것이다. M과 N에 대하여 특이적인 단일클론 항체에 형광물질을 부착하여 M 또는 N이 결핍된 적혈구를 추적해 낼 수 있다. Glycophorin A 변이 발현율 측정은 세포를 배양하지 않아도 되고, 적혈구가 비교적 안정적이므로 인구집단에 대한 정규적인 스크리닝의 도구로 활용하는데 여러 가지 기술적인 장점이 있으나, 적혈구를 이용하는 방법이므로 핵 내의 유전자를 이용한 자세한 변이의 스펙트럼을 분석할 수 없다는 단점이 있다(Schiwietz et al., 1996).

이 생물학적 지표를 저선량 방사선 노출 집단에 적용한 연구는 그다지 많지 않다. 영국의 Sellafield 원전 근로자 36명을 대상으로 한 연구에서는 방사선 노출량과 변이 발현율 사이에 상관관계를 발견하지 못하였다(Tucker et al., 1997). 여기서는 glycophorin A 변이 발현율 측정에 비하여 여전히 안정 염색체 이상이 만성적 방사선 노출에 대해 더 민감한 지표가 될 수 있음을 암시하였다. 체르노빌 원전 사고 당시 사고처리를 했던 근로자들(cleanup worker)에서도 glycophorin A 변이 발현율이 보고된 바가 있다(Bigbee

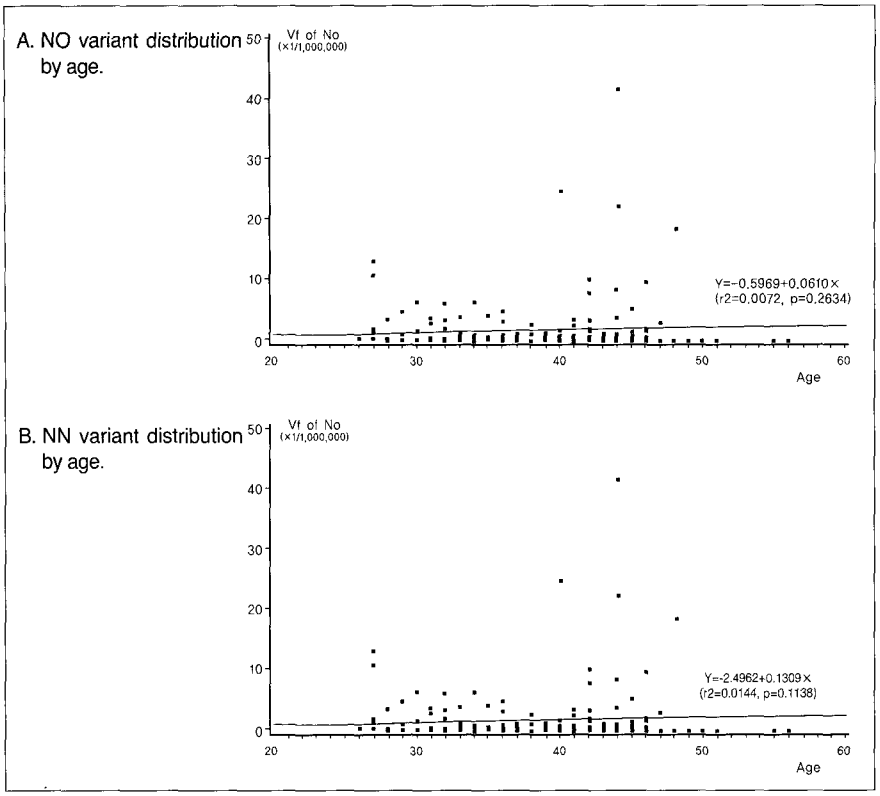


**Figure 2.** Glycophorin A variants distribution by age.

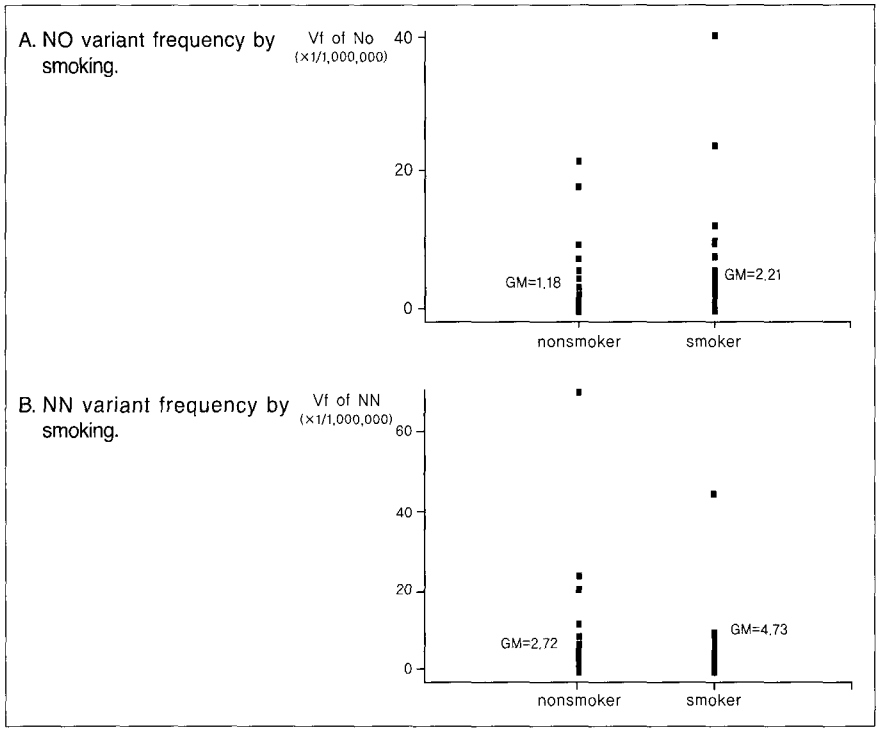


**Figure 3.** Frequency of GPA variant distribution by cigarette smoking.

et al., 1997; Moore et al., 1997). 이들 150명을 대상으로 한 연구에서는 glycophorin A 변이 발현율이 대조군에 비하여 NO 혹은 NN의 빈도가 유의한 차이를 보이지 않았던 반면(Moore et al., 1997), 1,500명을 대상으로 한 연구에서는 유의한 선량-반응 관계를 보고하였다(Bigbee et al., 1997).

본 연구에서 통계적으로 유의하지는 않았으나 연령이 증가할수록 변이 빈도가 함께 증가하는 양상을 보였다. 이는 기존의 다른 연구들, 즉 원폭 생존자들과 체르노빌 사고처리 근로자들에서 연령증가에 따라 양의 상관관계를 보인 것과 일치하는 소견이다(Grant et al., 1993; Bigbee et al., 1997). 연령이 증가함에 따라 glycophorin A 의 변이 발현율이 증가하는 것에는 다음과 같은 설명이 있다(Grant et al., 1993). 하나는 오랫동안 생존해 온 골수 세포에서 유전적인 손상이 연령 증가에 따라 누적된 효과라는 점이다. 다른 하나는, 연령 증가에 따라 개체내에서의 DNA 복구능력이나 세포분열, 화학적 비독성화 능력 등이 점차 감소한다는 일반적인 현상에서 기인한다. 방사선의 총 누적 노출량을 보정한 후의 연령에 의한 변이 빈도의 증가 폭은 단순 회귀 모형에 비하여 약간 감소하였으나 큰 차이는 없었다. 연령의 효과와 관련해서 본 연구에서 정의된 특이점에 해당하는 두 사람의 근로자는 모두 40세 이상이었다. 이는 $10^6$개의 세포 당 30개 이상의 변이세포가 나타나는 경우를 특이점으로 정의하였을 경우에 대부분의 특이점들이 고 연령층에서 나타났던 기존의 연구 결과와 일치하는 소견이었다(Bigbee et al., 1998).

흡연군은 비흡연군에 비하여 두 가지 유형의 변이 모두에서 높은 발현율을 나타내었다. 흡연은 잘 알려진 발암물질이다. 기존에 선행된 다른 연구에서, 전리방사선에 노출되지 않은 건강한 사람들에서 흡연량에 따라 NO 변이 발현율이 증가하는 양상이 보고되었는데(Bigbee et al., 1991; Bigbee et al., 1992), 원폭 생존자들 중 전리방사선에 노출되지 않은 그룹으로 분류되었던 사람들에서는 변이 발현율의 증가폭은 매우 작으나 통계적으로는 유의한 결과를 보여주었던 바 있다(Kyoizumi et al., 1996). 본 연구에서는 흡연량(pack year)과 변이 발현율 사이에 작은 양의 상관관계를 보였으나 통계적으로 유의하지 않았는데, 이러한 현상은 두

**Table 3.** GPA variant frequencies in exposed workers

| | Nuclear workers (n=144) | Hospital workers (n=32) |
|---|---|---|
| NO Variants | | |
| Arithmetic mean*† | 1.38±4.58 | 3.35±4.70 |
| Geometric mean† | 0.98(0.06-15.56) | 13.18(0.72-239.88) |
| Median | 0.25 | 1 |
| Range | 0 ~ 42 | 0 ~ 18.75 |
| NN Variants | | |
| Arithmetic mean*† | 2.43±7.55 | 2.72±4.33 |
| Geometric mean† | 2.99(0.20-40.93) | 11.22(0.93-134.90) |
| Median | 0.75 | 1 |
| Range | 0 ~ 72 | 0 ~ 21.5 |

* Arithmetic means and standard deviation

† Exponentiated values of the means and the asymmetric dispersion interval calculated from the logarithmic mean±SD of GPA variant frequency

‡ $p < 0.05$ based on Wilcoxon rank sum test

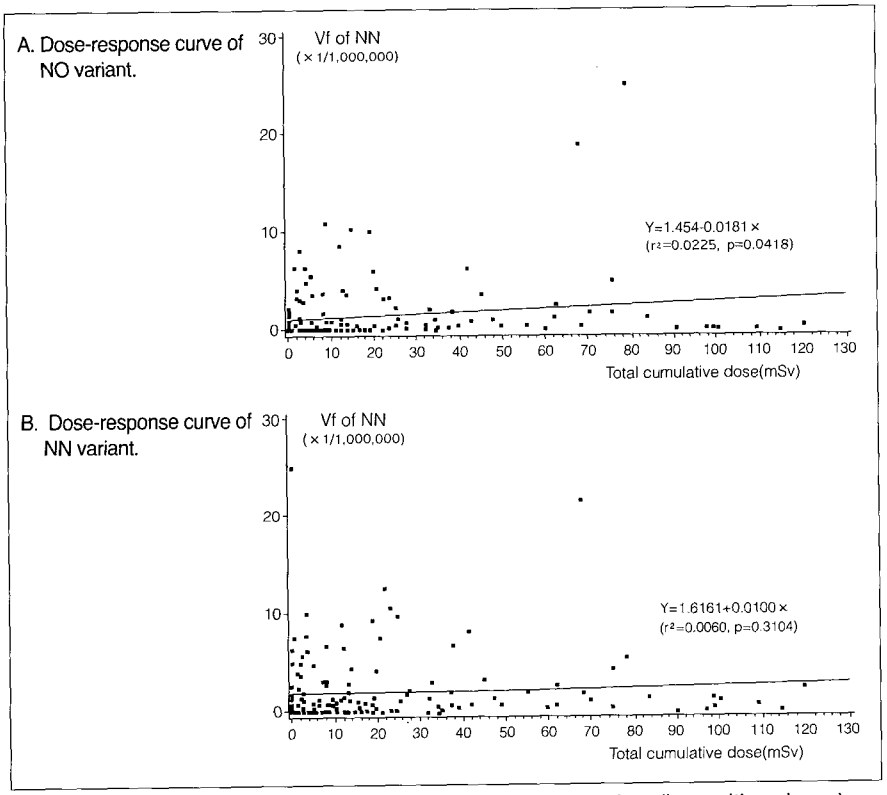


**Figure 4.** Dose-response relationships after exclusion of outliers with values less than 30.

**Table 4.** Multivariate dose-response analysis of GPA variant frequencies using generalized linear model*

| Populations | Variables | NO variants | p-value | NN variants | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| All exposed subjects | Dose | 0.0166 | 0.2301 | 0.0023 | 0.9127 |
| | Age | 0.0479 | 0.3889 | 0.1291 | 0.1274 |
| All exposed subjects (without outlier) | Dose | 0.0192 | **0.0398** | 0.0096 | 0.3518 |
| | Age | 0.0066 | 0.8599 | 0.0272 | 0.5024 |

* among $10^6$ red cells

가지 유형의 변이 모두에서 그러하였다.

기존의 다른 연구에서와 마찬가지로 본 연구에서도 NO 변이에 비하여 NN 변이의 폭이 훨씬 넓은데, 이것은 NN 변이가 NO 변이에 비하여 자연발생적으로 쉽게 일어날 가능성이 높은 변이기전에 의해 발생하는 것에서 설명되고 있다(Cole et al., 1994).

NN 변이에서는 두 직업군에서 큰 차이가 없었으나 NO 변이의 경우, 병원 종사자들이 원전 근로자들에 비하여 더 높은 평균 변이 발현율을 보였다. 변이 빈도의 범위는 원자력 발전소 근로자들이 2배 이상의 넓은 분포를 보였다. 병원 종사자들이 원자력 발전소 근로자에 비하여 높은 변이 발현율을 보인 것에 대해서는 무엇보다도 병원 종사자들의 근무력이 원자력 발전소 근로자에 비하여 통계적으로 유의하게 더 짧은 반면에, 비교적 최근 노출량(최근 1년, 최근 2년, 최근 5년)은 통계적으로 유의하게 많았다는 점에서, 상대적으로 병원 종사자들이 원자력 발전소 근로자들에 비하여 선량률 효과(dose rate effect)가 더 적었을 것으로 짐작할 수 있다. 선량률 효과란, 장기간에 걸친 저선량의 전리방사선을 간헐적으로 쪼이는 경우가 단기간에 상대적인 고선량의 방사선을 집중적으로 쪼이는 경우에 비하여 그 손상의 정도가 훨씬 적게 나타난다는 것이다(UNSC, 1994).

선량-반응관계에서 NO 변이는 특이점을 제외한 경우 유의한 상관성을 보였지만, NN 변이는 유의한 선량-반응 관계를 보이지 않았다. 이는 일반적으로, BR6 측정법이 NO 변이를 측정하는 것에 비하여 NN 변이를 측정하는 것에 덜 민감하고, 또 변이의 발생 기전 상 NN 변이가 NO 변이에 비하여 훨씬 더 넓은 변이분포를 보인다는 점에서 기인하는 것으로 보인다. 병원 종사자와 원전 근로자를 분리해서 분석한 단순회귀 모형에서는 NO 뿐 아니라 NN 변이에서도 유의한 양의 선량-반응 관계를 나타내었는데, 이는 동질적인 집단 내에서의 유사한 환경이 그 배경이 되어 변이의 폭이 좁아지는 것으로 생각된다. NN 변이는 NO 변이에 비하여

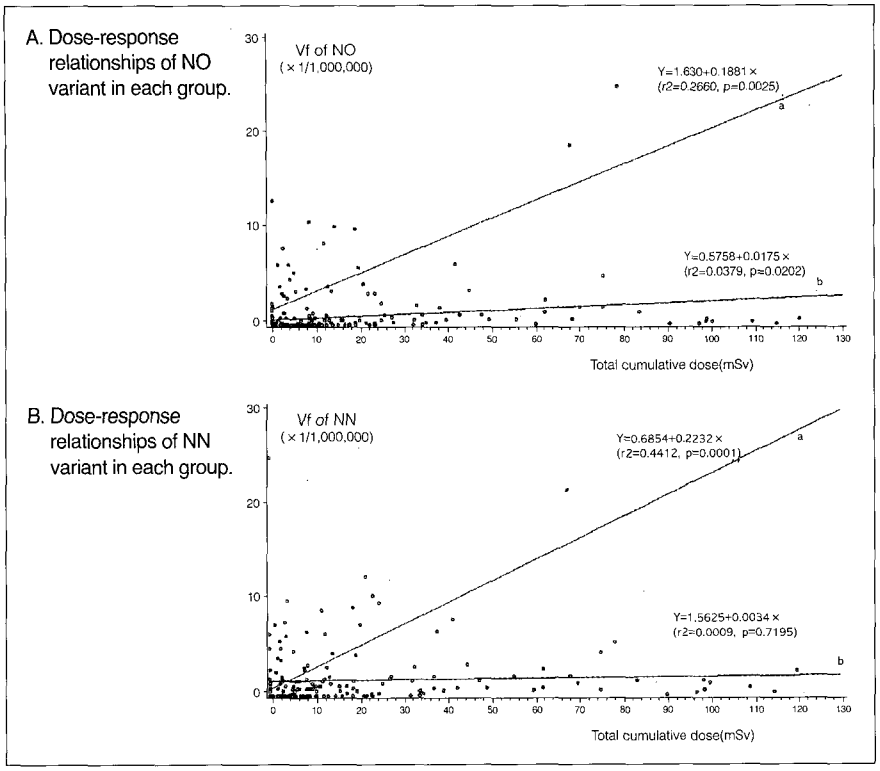


**Figure 5.** Dose-response relationships of GPA varinat in each group. *The line "a" and closed circles are those for hospital workers and the line "b" and open circles for nuclear power plant workers.*

외부 환경의 다양한 유해인자에 더욱 민감하여 많은 교란효과가 반영되는 것으로 판단된다. 기존의 많은 다른 연구들에서 NN 변이 세포가 전리방사선의 노출과 관련해서 민감한 지표가 되지 못함을 일관되게 보고하고 있는 것은 이러한 견해와 일치한다(Langlois et al., 1987; Kyoizumi et al., 1989; Akiyama et al., 1992; Straume et al., 1992; Langlois et al., 1993; Jensen et al., 1995).

단순회귀 모형 및 다중회귀 모형에서 모두 유의한 양의 상관성을 보인 NO 변이의 경우, 그 기울기의 크기는 본 연구에서 $0.018\times10^{-6}$/mSv(단순)과 $0.0192\times10^{-6}$/mSv(다중)로서 대략 0.02 부근이었다. 원폭 생존자와 체르노빌 사고 희생자와 같이 고선량의 전리방사선에 한순간에 노출된 사람들에서 보고된 선량-반응 직선의 기울기는 약 $2\times10^{-6}$/mSv 이었고, 상대적으로 저선량에 비교적 단기간에 걸쳐 전리방사선에 노출된 체르노빌 사고 처리 근로자에서는 약 $0.4\times10^{-6}$/mSv 로 보고된 바에 비하면 본 연구에서의 선량-반응 관계의 크기는 매우 작다. 또 원전 근로자와 병원 종사자를 각기 따로 선량-반응 분석을 하였을 때, 병원 종사자에서 원자력 발전소 근로자에 비하여 10배 더 높은 기울기를 나타내었는데, 이는 선량률 효과로 인한 것으로 생각된다. 즉 가장 오랜 기간 동안에 저선량의 전리방사선에 만성적으로 노출된 집단이 원자력 발전소 근로자라면, 이보다는 좀 더 짧은 기간동안에 상대적인 고선량이지만 역시 만성적인 저선량의 전리방사선에 노출된 집단이 병원 종사자이고, 그 다음으로 약 1여년동안 사고처리를 위해 방사선이 누출되는 지역에서 작업을 한 체르노빌 사고처리 근로자가, 마지막으로 급성의 고선량 전리방사선에 한순간에 노출된 집단이 원폭 생존자와 체르노빌 사고 희생자라고 한다면, 이들 집단의 누적 선량 및 노출기간의 함수에 따라 선량-반응 직선의 기울기가 점차적으로 증가하는 것으로 보여진다. 이러한 소견은, 기존의 동물실험 결과를 통해 제기되었던 선량율 효과가 역학적인 근거에서 확인된 것으로 생각할 수 있다. 지금까지 대부분 급성 고선량 전리방사선 노출집단을 대상으로 한 연구에서 glycophorin A 변이 발현율이 평생동안의 총 누적 노출량을 잘 반영하는 지표로 입증되었다 한다면, 본 연구에서와 같은 만성적인 저선량의 전리방사선에 노출되는 집단에서는 총 누적 노출량과 선량-반응 관계 뿐 아니라 선량률 효과가 현저히 나타나는 것으로 생각된다. 그러나 이러한 선량률 효과는 좀 더 정밀한 시계열적 통계분석의 모형과 더불어 더 다양한 저선량 노출 집단에 적용하여 엄밀히 검증될 필요가 있다.

기존의 연구에서 glycophorin A 변이 발현 측정법의 한계선이라고 제기되어 온 누적선량은 10 mSv 이다(Jensen et al., 1995). 따라서 glycophorin A 변이 측정이 10 mSv 이하의 극저선량에서도 유의한 선량-반응 관계를 나타낼 수 있는가 하는 것은 매우 중요한 문제가 된다. 실제 직업적, 생활적 환경에서는 10 mSv 이하의 극저선량에 노출되는 경우가 대부분이며, 본 연구대상자의 경우도 총 누적 선량이 10 mSv 이하인 사람이 전체의 56%인 99명이었다. 본 연구에서도 이들만으로 제한하여 선량-반응 관계 분석을 시도하였을 때, 앞서 다른 연구에서와 마찬가지로, 유의한 관계를 나타내지 못하였다(Jensen et al., 1995). 그러나 이것이 표본수의 문제인지 아니면 glycophorin A 변이발현 측정법 자체의 내재적인 민감도인지, 저선량 전리방사선의 hormesis 효과 인지의 여부는 차후에 엄밀한 검토가 요구되는 문제라 볼 수 있다.

NO 변이를 측정하는 경우에 상관계수가 0.8818 부근으로 높으며 통계적으로 유의하였고, 이 수치는 BR6 방법이 개발된 이후로 각각의 실험실에서 보고하는 것과 대체적으로 일치하고 있어(Langlois et al., 1992; Jensen et al., 1992), 본 연구에서 약간의 변형을 가한 것은 신뢰도에 영향을 주지 않았던 것으로 판단된다. 본 연구가 애초의 BR6 방법에서 변형된 사항은, 단일클론 항체 BRIC-157이 이미

fluorescent가 결합되어 있는 제품을 사용하였다고 하는 점과, 총 분석 적혈구 수를 한 시료 당 $5\times10^6$에서 $4\times10^6$으로 바꾼 점이다. NN 변이율 측정은 유의미한 신뢰도를 얻지 못하였는데, 기존의 다른 연구들에서도 NN 변이는 일관되지 못한 결과들을 보고하고 있고, 이는 앞서 언급한 BR6 방법의 특성에서 연유하는 실험방법의 한계로 생각되며, 향후 BR6 분석방법의 기술적인 향상을 위한 추가적인 연구가 필요하다.

## 결 론

본 연구는 급성 고선량 전리방사선 노출 집단에서 총 누적 노출량을 잘 반영하는 것으로 알려진 glycophorin A 변이 발현율 측정 방법을, 직업적으로 전리방사선에 노출되는 집단인 원자력 발전소 근로자 및 병원의 방사선 작업 종사자에 적용, glycophorin A 변이 발현율 측정이 저선량 만성 노출 집단에서도 유용한 생물학적 지표로 활용할 수 있는지를 평가하고자 시도하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 원자력 발전소 근로자 및 병원 종사자에서 연령 및 흡연량의 증가에 따라 glycophorin A 변이 발현 빈도는 증가하는 경향을 보였다.

2. 선량-반응 관계에서 원자력 발전소 근로자 및 병원 종사자 모두에서 통계적으로 유의한 양의 선량-반응 관계를 보였다.

3. 선량-반응 관계의 크기(회귀직선의 기울기)는 기존의 급성 고선량 노출 집단에서 보고된 크기에 비하여 현저히 작았고, 이는 선량률 효과로 판단되었다.

결론적으로, glycophorin A 변이 발현율 측정은 저선량 만성 전리방사선 노출 집단에서 골수의 누적 노출량을 잘 반영하여 노출 평가에서 유용한 생물학적 지표로서의 활용 가능성을 확인하였다.

## 감사의 글

이 연구는 서울대학교 의과대학 진단방사선과학교실 장기현 교수님, 핵의학교실 이명철 교수님, 한일병원 방사선보건연구센타의 김종순 소장님, 김은실 선생님, 양광희 선생님, 이연주씨가 주신 도움으로 가능하였습니다. 진심으로 감사드립니다.

## 참고문헌

Akiyama M, Kusunoki Y, Umeki S, Hirai Y, Nakamura N et al. Evaluation of four somatic mutations assays as biological dosimeters in humans. In : Radiation Research: A Twentieth-Century Perspective, W. Dewey, et al., eds. Academic Press: San Diego. 1992. p172-176

Akiyama M, Umeki S, Yoichiro K, Kyoizumi S, Nakamura N et al. Somatic-cell mutations as a possible predictor of cancer risk. *Health Physics* 1995; 68(5): 643-649

Bigbee WL, Jensen RH, Veidebaum T, Tekkel M, Rahu M et al. Biodosimetry of Chernobyl cleanup workers from Estonia and Latvia using the glycophorin A in vivo somatic cell mutation assay. *Radiat Res* 1997; 147: 215-224

Bigbee WL, Fusco JC, Grant SG, Jones IM, Gorvad AE et al. Human in vivo somatic mutation measured at two loci: individuals with stably elevated background erythrocyte glycophorin A(gpa) variant frequencies exibit normal T-lymphocyte hprt mutant frequencies. *Mutat Res* 1998; 397: 119-136

Blanchard D and Dahr W. Glycophorins : structure and antigens. In: Garratty G(ed). Immunobiology of transfusion Medicine. New York. Marcel Dekker Inc. 1994 p.37-68

Cole J and Skopek TR. Somatic mutant frequency, mutation rates and mutational spectra in the human population in vivo. *Mutat Res* 1994; 304: 33-105

Grant SG and Bigbee WL. In vivo somatic mutation and segregation at the human glycophorin A(GPA) locus: Phenotypic variation encompassing both gene-specific and chromosomal mechanism. *Mutat Res* 1993; 288: 163-172

Jensen RH, Langlois RG, Bigbee WL Grant SG, Moore II D et al. Elevated frequency of glycophorin A mutations in erythrocytes from Chernobyl accident victims. *Radiat Res* 1995; 141: 129-135

Jensen RH and Bigbee W. Direct immunofluorescence labeling provides an improved method for the glycophorin A somatic cell mutation assay. *Cytometry* 1996: 23; 337-343

Kyoizumi S, Nakamura N, and Hakoda M. Detection of somatic mutations at the glycophorin A locus in erythrocytes of atomic-bomb survivors using a single beam flow sorter. *Cancer Res* 1989; 49: 581-588

Kyoizumi S, Akiyama M, Cologne JB, Tanabe K, Nakamura N et al. Somatic cell mutations at the glycophorin A locus in erythrocytes of atomic bomb survivors: Implications for radiation carcinogenesis. *Radiat Res* 1996; 146: 43-52

Langlois RG, Bigbee WL and Jensen RH. The glycophorin A assay for somatic cell mutations in humans HPRT somatic mutation data. In : Mendelson ML (Ed), Fifth International Conference on Environmental Mutagens, Liss, New York. 1986 p47-56

Langlois RG, Bigbee WL, Kyoizumi S, Nakamura N, Bran MA et al. Evidence for increased somatic cell mutations at the Glycohorin A locus in atomic bomb survivals. *Science* 1987; 236: 445-448

Langlois RG, Bigbee WL, Jensen RH and German J. Evidence for increased in vivo mutation and somatic recombination in bloom's Syndrome. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86: 670-674

Langlois RG, Nisbet BA, Bigbee WL, Rindinger DN and Jensen RH. An improved flow cytometry assay for somatic mutations at the glycophorin A locus in humans. *Cytometry* 1990; 11: 513-521

Langlois RG, Akiyama M, Kusunoki Y, DuPont BR, Moore II DH et al. Analysis of somatic cell mutations at the glycohphorin A locus in atomic bomb survivors: A comparative study of assay methods. *Radiat Res* 1993; 136: 111-117

Littlefield LG, Sayer AM and Frome EL. Comparisons of dose-response parameters for radiation-induced acentric fragments and micronuclei observed in cytokinesis-arrested lymphocytes. *Mutagenesis* 1989; 4: 265-270

Lloyd DC, Edwards AA, and Prosser JJ. A collaborative exercise on cytogenetic dosimetry for simulated whole and partial body accidental irradiation. *Mutat Res* 1987; 179: 197-208

Moore DH, Tucker JD, Jones IM, Langlois RG, Pleshanov P et al. A study of the effects of exposure on cleanup workers at the Chernobyl nuclear reactor accident using

multiple end points. *Radiat Res* 1997; 148: 463-475

National Research Council. Biological markers in environmental health research. *Environ Health Perspect* 1987; 74: 1-191

Nicklas JA, O' Nell JP and Albertini RJ. Use of T-cell receptor gene probes to quantify the in vivo hprt mutations in human T-lymphocytes. *Mutat Res* 1986; 173(1): 67-72

Schiwietz J, Lorenz R, Scheubeck M, Borner W and Hempel K. Improved determination of variant erythrocytes at the glycophorin A(GPA) locus and variant frequency in patients treated with radioiodine for thyroid cancer. *Int J Radiat Biol* 1996; 70(2): 131-143

Straume T, Lucas JN, Tucker JD, Bigbee WL and Langlois RG. Biodosimetry for a radiation worker using multiple assays. *Health Physics* 1992; 62(2): 122-130

Trosko JE. Role of low-level ionizing radiation in multi-step carcinogenic process. *Health Physics* 1996; 70(6): 812-822

Tucker JD, Tawn EJ, Holdsworth D, Morris S, Langlois R et al. Biological dosimetry of radiation workers at the Sellafield nuclear faciliy. *Radiation Research* 1997; 148: 216-226

United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, Sources, Effects and risk of ionizing radiation, 1993 Report to the General Assembly, with Annexes. United Nations, New York, 1994