분화 갑상선암 환자에서 I-131 치료에 의해 유도되는 방사선적응반응

전남대학교 의과대학 핵의학교실

이 명 호·범 희 승

Radiation Adaptive Response Induced by I-131 Therapy in Patients with Differentiated Thyroid Cancer

Ming-Hao Li, M.D. and **Hee-Seung Bom,** M.D.

Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

Abstract

Purpose: The purpose of this study was to ascertain whether radiation adaptive response could be induced by high dose I-131 therapy in patients with differentiated thyroid cancer. **Materials and Methods:** Lymphocytes from 21 patients (7 males, 14 females, mean age 55±12 years) were collected before and after administration of 5,550 MBq (150 mCi) I-131. They were exposed to a challenge dose of 1 Gy gamma rays using a Cs-137 cell irradiator. The number of ring-form (R) and dicentric (D) chromosomes was counted under the light microscope, and used to calculate the frequency of chromosomal aberration. Ydr, which was defined as the sum of R and D divided by the total number of counted lymphocytes. **Results:** Ydr in patients before I-131 therapy (0.09±0.01) was not different from that of controls (0.08±0.01). Ydr was significantly increased to 0.13±0.02 ($p<0.0001$) after I-131 therapy. Increase of Ydr after the challenge irradiation of 1 Gy was significantly lower in patients after I-131 therapy than before I-131 therapy (0.17±0.03 vs 0.21±0.02, $p<0.0001$). Cycloheximide (CHM), an inhibitor of protein synthesis, abolished this effect. Ydr after CHM (0.20±0.01) was significantly higher than Ydr after I-131 therapy (0.17±0.03, $p<0.0001$), but was not different from Ydr before I-131 therapy (0.21±0.02). **Conclusion:** High dose I-131 therapy induces an adaptive response in peripheral lymphocytes of patients with well-differentiated thyroid cancer, which is associated with protein synthesis. **(Korean J Nucl Med 2001;35:83-88)**

Key Words: Radiation adaptive response, I-131 therapy, Lymphocytes, Thyroid cancer

서 론

저선량(20 cGy 이하)의 방사선에 노출된 인체 림프구가 일정한 시간 내에 고선량(1~2 Gy)의 방사선에 다시 노출되어도 염색체 손상을 잘 입지 않는다는 사실이 널리 알려져 있으며, 이 현상을 방사선적응반응(radiation adaptive response)이라고 부른다. 이는 주로 H-3 thymidine,[1~3] X선[4-11] 및 γ

Received Jan. 30, 2001; accepted Apr. 11, 2001
Corresponding author: Hee-Seung Bom, M.D., Ph.D.
Department of Nuclear Medicine
Chonnam National University Hospital
8 Hakdong, Gwangju 501-757, Korea
Tel 82-62-220-5641, Fax 82-62-232-0232
E-mail: hsbom@chonnam.ac.kr

선[12,13]을 이용하여 연구되었는데, 방사선적응반응을 유도할 수 있는 저선량의 범위는 H-3 thymidine의 경우 1~10 cGy,[4] X선의 경우 0.5~20 cGy,[7] γ 선의 경우 1~20 cGy[12]로 알려져 있다. 이보다 높은 선량의 방사선을 외부에서 조사한 경우에는 방사선적응반응이 일어나지 않는다고 보고되었지만, 고선량의 I-131을 인체에 투여한 경우에는 인체 말초혈액림프구에서 방사선적응반응이 일어난다는 보고도 있다.[14] 그러나 갑상선암 환자에서 고선량의 I-131을 투여하기 전후에 일어나는 방사선적응반응에 대한 체계적인 연구는 아직 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 갑상선전절제술 후 국소전이된 분화갑상선암을 제거하기 위해 5,550 MBq (150 mCi)의 I-131을 투여받은 환자의 말초혈액 림프구에서 I-131 투여 전후에 방사선적응반응이 어느 정도 일어나는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자

분화갑상선암에 대한 I-131 치료를 시행한 21명의 환자(남자 7명, 여자 14명, 평균연령 55±12세)를 대상으로 I-131 치료전과 I-131 치료후 72 시간에 각각 5 ml씩 채혈하여 배양하였다. 이 연구는 채혈에 동의한 환자만을 대상으로 하였고, I-131 치료를 시행한 환자군 중 항암제나 방사선치료를 받은 과거력이 있는 환자와 뼈나 폐 등에 원격전이가 있는 환자는 제외하였으며, 치료용량은 모두 5,550 MBq (150 mCi)였다. 모든 환자에서 치료 2주전에 I-131 185 MBq로 진단스캔을 시행하였다. 대조군으로는 염색체 이상을 동반하는 유전병의 병력이 없는 건강한 자원자 10명(남자 6명, 여자 4명, 평균연령 43±7세)에서 분리한 림프구를 이용하였다.

2. 배양 및 방사선 조사

RPMI 1640 medium 8 ml에 15% 우태아 혈청(fetal bovine serum) 1.5 ml, 세포분열촉진제인 3% phytohemagglutinin (PHA) 100 μg, penicillin 100 unit/ml, streptomycin 100 μg/ml을 첨가한 멸균튜브에 채취한 말초 혈액을 10방울 섞은 다음 37℃, 5% CO_2 배양기에서 배양하였다.

외부방사선 조사는 배양 70 시간째에 Cs-137 감마선조사기(central dose rate = 654 Gy/h, Gammacell 3,000 Elan, Nordion, Canada)를 사용하여 1 Gy를 조사하였다. Cycloheximide를 처리한 경우는 외부방사선조사 2시간 전에 cycloheximide 10 μg/ml를 첨가하고 2시간 후에 2 차례 세척한 다음 감마선을 1 Gy 조사하였다.

3. 수확

배양 70시간 후에 colcemid 0.2 ml를 첨가하여 중기 상태에서 분열을 억제시킨 후 2시간 더 배양하였다. 배양이 끝난 시험관은 1,200 rpm으로 5분간 원심분리 한 다음 상층액은 버리고 저장액(hypotonic solution, 0.075M KCl)을 8 ml 씩 각각 분주하고 잘 섞은 후 37℃ 수조에서 20분간 방치하였다. 여기에 고정액(fixer solution, methanol : acetic acid = 3 : 1) 5 ml를 섞고 15분간 냉장 보관한 다음 1,200 rpm으로 5분간 원심분리하고 상층액을 버리고 다시 고정하였는데, 이 과정을 두 차례 더 반복하여 여분의 상층액은 버리고 침전된 세포를 잘 섞은 다음 슬라이드를 제작하여 공기 중에서 잘 건조시킨 뒤 Giemsa 용액으로 염색하였다.

4. 현미경 검경 및 계수

염색체 표본은 현미경하에서 100배의 배율로 관찰하여 핵분열 중기의 세포를 찾아 1,000배로 확대관찰하였다. 이때 세포 당 염색체 수가 46개 전후인지 확인하고 그 숫자가 부족하거나 염색체 밀도가 염색체 이상의 빈도를 관찰하기에 부적합한 것은 관찰에서 제외시켰다. 불안정 염색체인 반지형(R)과 이중중심체형(D) 염색체의 숫자를 계수하였고 하나의 염색체 중에서 3개 이상의 중심체가 보일 때에는 그 중심체의 수효에서 1을 뺀 횟수만큼을 이중중심체형 염색체로 간주하였다.

불안정염색체의 발생빈도를 Ydr값으로 표현하였는데, Ydr값의 정의는 R과 D를 합한 값을 계수한 림프구 총수로 나눈 값으로 하였다.

5. 통계분석

대조군과 각 실험군 간의 Ydr값은 ANOVA test를 이용하여 차이를 검증하였으며, 각 군간의 다중검정을 위한 사후검정은 Bonfferioni 보정을 이용하였고, p값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

대조군과 I-131 치료전 환자군에서 Ydr값은 0.08±0.01과 0.09±0.01로 유의한 차이가 없었으나(p>0.05), I-131 치료 후 환자군의 Ydr값이 0.13±0.02로 유의하게 증가하였다(p<0.0001, Table 1).

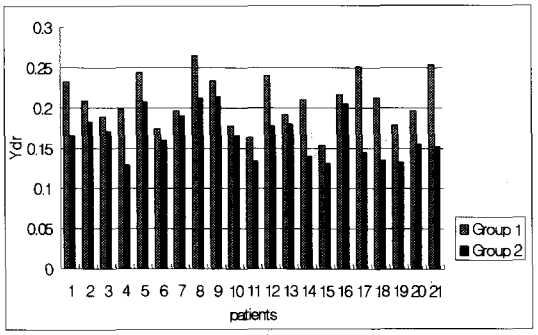

Fig. 1. Ydr induced by 1 Gy of external gamma irradiation in peripheral lymphocytes of individual patients with thyroid cancer before (group 1) and after (group 2) I-131 ablation therapy. Ydr was defined as numbers of ring and dicentric chromosomes divided by total number of lymphocytes counted.

Table 1. Choromosomal aberrations in peripheral lymphocytes before and after I-131 therapy in patients with well differentiated thyroid cancer

Group	Number of donors	Total number of scored cells	Total number of chromosomal aberrations	Ydr	
Control	10	3337	274	0.08±0.01	†
Before I-131 therapy	21	5344	480	0.09±0.01	*
After I-131 therapy	21	3764	489	0.13±0.02	

Ydr: Sum of numbers of ring and dicentric chromosomes divided by number of total lymphocytes scored.
† p>0.05, * p<0.001.

Table 2. Induction of chromosomal aberrations by 1 Gy gamma irradation in peripheral lymphocytes before and after 5550 MBq I-131 therapy in patients with well differentiated thyroid cancer

Group	Number of donors	Total number of scored cells	Total number of choromosomal aberrations	Ydr		
Control	10	1514	374	0.24±0.01	*	
Before I-131 therapy	21	3427	719	0.21±0.02	**	†
After I-131 therapy	21	3323	503	0.17±0.03	**	
Cycloheximide	10	1692	334	0.20±0.01		

Ydr: Sum of numbers of ring and dicentric chromosomes divided by number of total lymphocytes scored.
*p=0.0004, **p<0.0001, † p>0.05.

대조군과 환자군의 림프구에서 1 Gy의 감마선을 조사하였더니 Ydr값은 대조군에서는 0.24±0.01이고, I-131 치료전 환자군에서는 0.21±0.02, 치료후 환자군에서는 0.17±0.03로 대조군에 비해 치료전 환자군에서 유의하게 낮았고(p=0.0004), 치료후 환자군은 대조군과 치료전 환자군에 비해 매우 유의하게 낮았다(p<0.0001). 환자 개개인에서 치료전후의 림프구에 1 Gy의 감마선을 조사한 후 측정한 Ydr값을 Fig. 1에 보였다. 치료전후 Ydr값 차이의 평균치는 0.04±0.03으로 Ydr값의 CV값은 70.43%였다. 대조군과 환자군의 림프구에 1 Gy의 감마선을 조사후 Ydr값 증가치는 대조군 0.16±0.01, 치료전 환자군 0.12±0.03, 치료후 환자군 0.03±0.02로 치료후 환자군에서 유의하게 낮았다(p<0.0001, Table 2).

I-131 치료후 환자군에 Cycloheximide를 처치하고 1 Gy의 외부감마선을 조사한 경우에는 Ydr값이 0.20±0.01으로 Cycloheximide을 처치하지 않은 군(0.17±0.03)에 비해 유의하게 높은 값을 보였으며(p<0.0001), 이 값은 치료전 1 Gy만 조사한 군(0.21±0.02)과 비교하여 유의한 차이가 없었다(p>0.05, Table 2).

고 찰

본 연구에서는 5,550 MBq (150 mCi)의 고선량 I-131을 이용하여 분화갑상선암을 치료한 환자에서 I-131 치료전후에 각각 채혈한 다음 Cs-137 감마선 조사기를 이용하여 외부로부터 1 Gy의 감마선을 조사하고 중기염색체 분석법으로 불안정 염색체수를 계수함으로써 I-131 치료를 시행하는 환자에서 방사선적응반응이 유도되는지 알아보았는데, 분화갑상선암 환자에서 치료용량의 I-131을 섭취하였을 때 말초혈액 림프구에서 방사선적응반응이 유도된다는 사실을 밝혔다. 그리고 이 과정에 저선량 방사선에 의해 유도되는 방사선적응반응과 같이 단백질이 관여한다는 사실도 알 수 있었다.

저선량 방사선 유도 적응반응은 주로 H-3 thymidine,[1~3] X선[4-11] 및 γ 선[12,13]을 이용하여 연구되었고, 고준위 방사선에 대한 저항기전은 방사선에 의해 발생된 라디칼이 감소되거나 DNA, 단백질, 손상된 세포가 제거됨으로써 획득되는 것으로 생각된다. 하지만 아직도 어떠한 기전으로 저항성을 갖게되는지 명확하게 밝혀져 있지 않은 상태이다. 방사선 적응반응을 유도할 수 있는 저선량의 범위는 X선의 경우 0.5~20 cGy,[7] γ 선의 경우 1~20 cGy[12]로 알려져 있다. Bai 등[12]은 Co-60 감마선 0.005 Gy를 단일 조사하였을 때에는 적응반응이 유도되지 않았으나, 같은 세포주기에 0.005 Gy를 2회 조사하였을 때 적응반응이 유도되어 저선량의 방사선이 여러 차례 축적되면 방사선 적응반응이 유도 될 수 있음을 밝혔다. Monsieurs 등[14]은 I-131 투여 전·후 1주일 기간을 두고 채혈하여 0, 0.5, 1.0 Gy의 선량을 조사한 다음 치료 전·후 미소핵의 변화를 통해 적응반응을 관찰하여 치료환자 중 40%(8/20)에서 미소핵의 변화가 치료 전에 비해 유의하게 감소하여 적응반응이 유도됨을 관찰할 수 있었다고 하였다. 본 연구 대상환자에서는 Monsieurs 등[14]의 결과와는 다르게 모든 환자에서 적응반응이 일어났다. 하지만 개인별로 적응반응이 일어난 정도가 일정하지 않아서 CV값이 70.43%였다. 개인별로 차이가 있는 이유에 대해서는 방사성감수성, DNA 수선과정 등과 관련이 있을 것이라고 추측할 수 있겠으나, 정확한 이유를 추론하기에는 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

한편 I-131 치료에 의해 유도되는 방사선적응반응이 단백합성 억제제인 cycloheximide에 의해 억제됨을 알 수 있었는데, 방사선적응반응이 유도되는 과정에 단백질이 관여한다는 사실을 보여주는 실험결과이다. Youngblom 등[15]도 저 선량의 X-선 조사 4~6시간 사이에 cycloheximide를 처리한 결과 고선량의 조사에 대한 적응반응이 사라진다고 보고하였다.

Shadley 등[7]은 저선량 조사 후 4~6시간 사이에 DNA 수선기전이 일어나기 때문에 적응반응을 유도하기 위해서는 저선량 조사 후 적어도 4시간이 필요하다고 보고하였고, Ikushima 등[16]도 저선량 조사 후 4시간 전에는 방사선적응반응이 일어나지 않음을 보고하고 있다. 또한, Barquinero 등[17]은 직업적 전리방사선에 노출된 사람들의 혈액을 채혈하

여 2 Gy 방사선을 조사하였더니 직업적 전리방사선에 노출되지 않은 군보다 염색체이상이 현격하게 감소되어 적응반응이 유발됨을 관찰되었다고 보고하였다.

I-131 치료 전 환자의 림프구에 1 Gy의 감마선을 조사한 군의 Ydr값이 대조군보다 유의하게 낮은 현상은 환자가 치료전 전이여부 진단을 위해 섭취한 I-131 (185 MBq)에 의해 이미 적응반응이 유도되었던 것으로 판단된다. 진단을 위한 핵의학검사에 의해 방사선적응반응이 유도된다는 사실은 잘 알려져 있다.[18]

I-131 치료 후에 림프구의 염색체 손상이 일어난다는 사실은 잘 알려져 있다. 본 연구에서도 I-131 치료 후에 Ydr값이 현저하게 상승하여 염색체 손상이 많이 일어났음을 확인할 수 있었다. 생물학적 선량평가법으로 Ydr값을 산출할 수 있는데, 본 연구실에서 계산한 바에 의하면 대상환자들의 림프구 피폭선량은 대략 1 Gy 정도가 될 것으로 생각된다.

요약하면 본 연구에서는 분화갑상선암 환자들에게 치료를 위해 고선량의 I-131을 투여하는 경우에도 방사선적응반응이 일어난다는 사실을 확인하였다. 본 연구의 문제점은 I-131 투여후의 정확한 흡수선량을 개인별로 측정하지 않은 점이다. 하지만 대상환자가 모두 갑상선전절제술을 받았고, 모두 같은 용량을 투여하였으므로 대상환자간에 큰 차이는 없었을 것으로 사료된다.

요 약

목적: 본 연구에서는 분화갑상선암 환자에서 치료용량의 방사성옥소(I-131)를 섭취한 후 말초혈액 림프구에서 방사선적응반응이 유도되는지 알아보고자 하였다. **대상과 방법**: 분화갑상선암에 대한 I-131 치료를 시행한 21명의 환자(남자 7명, 여자 14명, 평균연령 55±12세)를 대상으로 I-131 투여 전과 5,550 GBq (150 mCi) 투여 후 72 시간에 각각 5 ml씩 채혈하여 배양하고, 배양 70 시간 후에 Cs-137 세포조사기를 사용하여 1 Gy의 감마선을 조사하였다. I-131 치료 후 채혈한 혈액 중 일부는 배양 68 시간째에 단백합성억제제인 cycloheximide (CHM) 10 μg/ml을 첨가하고 2시간 후에 2차례 세척한 다음 1 Gy의 감마선을 조사하였다. 대조군으로는 염색체 이상을 동반하는 유전병 병력이 없는 건강한 사람 10명(남자 6명, 여자 4명, 평균연령 43±7세)에서 분리한 림프구를 이용하였다. 환자군 중 I-131 치료 전에 채혈한 군과 I-131 치료 후 채혈한 군, 그리고 대조군을 각각 1 Gy를 조사하지 않은 군과 조사한 군으로 나누어 불안정 염색체를 계수한 다음 불안정염색체의 출현빈도를 나타내는 Ydr값을 구하여 서로 비교하였다. **결과**: 대조군과 I-131 치료전 환자군에서 Ydr값은 0.08±0.01과 0.09±0.01로 유의한 차이가 없었으나, I-131 치료 후에는 환자군의 Ydr값이 0.13±0.02로 유의하게 증가하였다. 이 혈액에 1 Gy의 감마선을 조사하였더니 Ydr값이 대조군과 환자군의 림프구에서 1 Gy의 감마선을 조사하였더니 Ydr값이 대조군에서는 0.24±0.01이고, I-131 치료전 환자군에서는 0.21±0.02, 치료후 환자군에서는 0.17±0.03로 대조군에 비해 치료전 환자군에서 유의하게 낮았고, 치료후 환자군은 대조군과 치료전 환자군에 비해 더욱 낮았다. 증가치는 대조군 0.16±0.01, 치료전 환자군 0.12±0.03, 치료후 환자군 0.03±0.02로 치료후 환자군에서 유의하게 낮았다. 그러나, I-131 치료후 환자군에 CHM을 처치하고 1 Gy의 외부감마선을 조사한 경우에는 Ydr값이 0.20±0.05으로 CHM을 처치하지 않은 군에 비해 유의하게 높은 값을 보였다. **결론**: 고선량의 I-131을 투여한 환자의 림프구에서 방사선적응반응이 유도됨을 알 수 있었고, 이 반응에는 단백질이 관여함을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Olivieri G, Bodycote J, Wolff S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radiations of radioactive thymidine. *Science* 1984;223:594-7.
2. Wiencke JK, Afzal V, Olivieri G, Wolff S. Evidence that the [^{3}H] 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.
3. Wolff S, Afzal V, Wiencke JK, Olivieri G, Michael A. Human lymphocytes exposed to low doses of ionizing radiations become refractory to high doses of radiation as well as chemical mutagens that induce double-strand breaks in DNA. *Int J Radiat Biol* 1988;3:39-48.
4. Ikushima T. Radio-adaptive response: Characterization of a cytogenetic repair induced by low-level ionizing radiation in cultured Chinese hamster cells. *Mutat Res* 1989;227:241-6.
5. Shadley JD, Afzal V, Wolff S. Characterization of the adaptive response to ionizing radiation by low doses of X rays to human lymphocytes. *Radiat Res* 1987;111:511-7.
6. Shadley JD, Wiencke JK. Induction of the adaptive response by X-ray is dependent on radiation intensity. *Int J Radiat Biol* 1989;56:107-18.
7. Shadly 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.
8. Youngblom JH, Wiencke JK, Wolff S. Inhibition of the adaptive response of human lymphocytes to very low doses of ionizing radiation by the protein synthesis inhibitor cycloheximide. *Mutat Res* 1989;227:257-61.
9. Khandogina EK, Mutovin GR, Zverva SV, Antipov AV, Akifyev AP. Adaptive response in irradiated human lymphocytes: radiobiological and genetical aspects. *Mutat Res* 1991;251:181-6.
10. Wojcik A, Bonk K, Muller WU, Streffer C, Weissenborn U, Obe G. Absence of adaptive response to low doses of X-rays in preimplantation embryos and spleen lymphocytes of an inbred mouse strain as compared to human peripheral lymphocytes: a cytogenetic study. *Int J Radiat Biol* 1992;62:177-86.
11. Lu C, Liu SZ. Study on the mechanisms of cytogenetic adaptive response induced by low dose radiation. *Chin Med J* 1992;105:277-83.
12. Bai Y, Chen D. Accumulative effect of two low doses of irradiation in inducing an adaptive response in human lymphocytes. *Mutat Res* 1993;302:191-6.
13. 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.
14. Monsieurs MA, Thierens HM, Vral AM, Van De Wiele C, De Ridder LI, Dierckx RA. Adaptive response in patients treated with I-131. *J Nucl Med* 2000;41:17-22.
15. Youngblom JH, Wiencke JK, Wolff S. Inhibition of the adaptive response of human lymphocytes to very low doses of ionizing radiation by the protein sythesis inhibitor cycloheximide. *Mutat Res* 1989;227:257-61.
16. Ikushima T. Chromosomal responses to ionizing radiation reminiscent of an adaptive response in cultured Chinese hamster cells. *Mutat Res* 1987;189:215-21.
17. Barquinero JF, Barrios L, Caballin MR, Caballin R. Miro M. Occupational exposure to radiation induces an adaptive response in human lymphocytes. *Int J Radiat Biol* 1995;67:187-91.
18. Min JJ, Bom HS. Induction of Radiation Adaptive response in lymphocytes of patients undergoing bone scintigraphy. *Korean J Nucl Med* 1999;33:173-7.