

## 맥주의 방사선방어효과에 관한 연구

부산대학교병원 방사선종양학과

손종기 · 하태영 · 황철환 · 이영화

**목 적:** 현재 시판되고 있는 맥주(Alcohol 4.5% 이하)를 섭취한 후에 인체가 방사선(X-선)에 노출되었을 경우 방어효과의 가능 여부를 확인하고자 한다.

**대상 및 방법:** 자원한 건강한 성인남자 5명(26~38세)으로부터 채취한 8 ml의 말초혈액 임파구세포를 분주하고 선형가속기를 이용하여 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 5.0 Gy의 방사선을 조사하고 맥주섭취 전과 후, 그리고 미량성분의 첨가후로 나누어 실험하였다. 방사선조사 후 60시간동안 이를 배양하고 세포고사(Apoptosis)된 세포군(Apoptosis group)을 정량적으로 분석하기 위하여 유세포 분석기(Flow cytometry)로 측정하였다.

**결 과:** 맥주섭취 전에 방사선조사로 유발된 세포고사 세포군(Apoptosis group)과 섭취 후 맥주에 의해서 억제된 세포고사 세포군을 서로 비교하였다. 맥주섭취 전 방사선에 유발된 세포고사(Apoptosis) 세포군(Apoptosis group)비율은 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 5.0 Gy에서  $1.22\pm 1.1$ ,  $1.38\pm 1.0$ ,  $1.47\pm 1.2$ ,  $1.47\pm 1.1$ ,  $1.50\pm 1.2$ 로 선량에 따라 유의하게 증가하였으며, 맥주섭취 후 세포고사(Apoptosis)가 억제된 세포군(Apoptosis group) 비율은 선량에 따라서  $0.97\pm 1.2$ ,  $0.99\pm 1.0$ ,  $1.11\pm 0.9$ ,  $1.29\pm 1.1$ ,  $1.15\pm 1.1$ 으로 평균 약 21.4% 감소되었다. 또한 무알콜맥주에서  $1.22\pm 1.1$ ,  $1.17\pm 1.1$ ,  $1.13\pm 1.3$ ,  $1.38\pm 1.2$ ,  $1.32\pm 1.1$ 으로 평균 10.8%로 저하된 것으로 분석되었다.

**결 론:** 인체가 방사선에 노출되기 전에 적당한 양의 맥주를 섭취하고 난 뒤에, 방사선에 노출된다면 맥주를 섭취하지 않은 상황에 비하여 방사선(X-선) 대한 방어효과(약 21.4%)가 일어남을 확인하였다.

**핵심용어:** 방사선 방어효과, 임파구, apoptosis, flow cytometry

### 서 론

의료의 여러 분야에서 방사선 이용을 빠뜨릴 수 없게 되고 있는 지금, 피폭 선량의 다소에 관계없이 방사선 장애의 리스크를 극복하기 위한 방사선 방호제의 개발을 위한 연구는 사회의 중요한 과제가 되고 있다.

특히, 일본에서 발생한 토카이무라의 우라늄 가공공장의 임계 사고 이후, 원자력 관련 업무 종사자의 리스크를 경감하는 약제의 개발은, 큰 주목을 끌고 있다. 또한 최근 현저하게 발전하고 있는 방사선 치료부분에도, 이에 수반하는 부작용을 경감하는 약제를 활용함으로써, 한층 더 효과적인 치료 가 가능해지고 있다.

그러나, 방사선 피폭에 의한 생체 장애, 부작용의 예방이나 치료를 목적으로 한 방사선 방어제로 실용화되어 있는 약제(Ethyol 등)는 극히 적고, 또 부작용을 수반하는 경우가 많아

장기간 복용에 있어 여러 가지 난제인 것이 사실이므로 새로운 방호제의 개발이 필요하다.

최근에는 마늘, 인삼, 된장 등의 식품이나 식품 성분(락토펜, 비타민E, 스쿠알렌)에 의한 방사선 방호제의 연구가 진척되고 있다.

히로시마와 나가사키의 원폭이나 구소련의 체르노빌 원전 사고 피해자 중에서 주류 섭취로 인하여 방사선 영향이 저감되었다는 보고가 있어 왔다.<sup>1)</sup> 이에 방사선 피폭 전에 맥주를 섭취한 사람과 맥주를 섭취하지 않은 상태에서 방사선에 피폭된 경우와 비교함으로써 맥주에 의한 방사선 방어효과를 확인하고자 한다.

여러 가지 주류 중에서 맥주를 선정한 것은 어느 나라에서도 즐겨 섭취하는 주류의 한 종류이며, 알코올 함유율이 그다지 높지 않아 섭취하기 용이하고 또 맥주 속에는 맥아성분과 미량의 성분들이 있기 때문이다. 따라서 시판되고 있는 맥주를 섭취하기 전과 섭취 후에 그리고 미량성분의 처리 후에 세포고사(Apoptosis)율을 유세포분석기(Flow cytometry)로 분석하고자 하였다.

인체의 말초 혈액 중 임파구세포를 분리하여 방사선을 선

이 논문은 2007년 4월 1일 접수하여 2007년 6월 25일 채택되었음.  
책임저자 : 손종기, 부산대학교병원 방사선종양학과  
Tel: 051)240-7380, Fax: 051)248-5747  
E-mail: bigshon@hanmail.net

량별로 조사시키고 이를 일정시간 배양한 후 방사선에 의해 유도된 세포고사(Apoptosis)되는 세포를 유세포 분석기로 정량하여 Apoptosis가 어느 정도 비율로 저감되는지를 알아보고자 하였다.

따라서 방사선에 유발되는 Apoptosis 억제 물질로서 맥주 성분의 이용가능성, 그리고 방사선 피폭에 의해 발생하는 Apoptosis의 발생률을 감소시키는 방사선 방어제로서 그 가능성을 연구하는데 기초 자료로 이용하고자 하는데 그 목적이 있다.

## 대상 및 방법

### 1. 채혈

전혈의 말초혈액은 건강한 정상인 자원자 5명(26~38세)의 동의를 얻어 확보하였다. 증류수(distilled water), 맥주(Alcohol 4.5%), 무알콜 맥주(Alcohol 0.3% 이하) 800 ml를 각각 섭취하고 2시간 경과 후 5명의 자원자로부터 각각 8 ml의 혈액을 정맥천자를 통하여 EDTA 튜브에 모았다.

### 2. 말초혈액의 임파구세포 분리

전 혈액에서 말초혈액 임파구세포의 분리는 기존의 밀도 구배원심분리 방법을 이용하여 분리 하였고, 상온에서 600 g의 속도로 30분간 원심 분리하여 상층의 혈청을 약간만 남기고 제거한 후, 남아있는 세포들을 PBS로 1 : 1로 희석하였다. 15 ml 용량의 튜브를 준비하고 5 ml의 Histo paque-1077 (Sigma)를 채운 후, 희석된 혈액을 조심스럽게 상층에 올려 놓은 다음, 튜브를 상온에서 400 g의 속도로 30분간 원심 분리하였고, 감속 시에는 브레이크를 사용하지 않은 채 감속하였다. 세포가 모여 있는 사이층을 피펫을 이용하여 조심스럽게 분리하고, 분리한 사이층은 각 5 ml의 PNB inter phase를 이용하여 3회 세척 하였다.

### 3. 방사선조사

방사선조사는 임상에서 암치료에 이용되고 있는 선형가속기인 Clinac 21 Ex (Varian, USA)으로 6 Mv (X-선), 분당 3 Gy의 선량률로 분주된 혈액에 SSD (시료와 혈액간 거리) 100 cm에서 조사하였다.

### 4. 말초혈액 임파구세포 배양

말초혈액 임파구세포는 100 units/ml의 Penicillin-Streptomycin과 15% FBS가 함유된 RPMI-1640 (Gibco) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 말초혈액 임파구 세포를 배지 1 ml당 2×10<sup>5</sup>개의 밀도를 6-Well cell culture plate에 분주하였으며 실험조건에 맞추어 각각 방사선 선량이 다르게 조사한 말초혈액 임파구세포를 60시간 동안 배양하였다. 맥주의 미량원소를 첨가한 실험을 위해서는 최종농도 Melatonin 1 mM과 Glycine Betain (G.B) 50 mM을 배지에 첨가하였다. 처리된 세포를 각각 회수하여 원심 분리하여 배지를 모두 제거하고 PBS로 1회 세척하였다.

### 5. 유세포분석(Flow cytometry)

유세포분석기를 이용한 세포분석을 위하여 Annexin-V-FITC (Pharmingen)와 Propidium iodide (PI, 5 µg/ml, Sigma)로 세포들을 염색 처리하였고, Cell quest software (Becton Dickinson; BD)를 이용하여 FACS Caliber (BD)에서 520 nm와 630 nm 영역에서 FITC 혹은 PI 형광을 보이는 세포들을 분석하였다.

### 6. 자료처리와 통계분석

생존한 세포와 방사선에 의해 죽은 세포(Apoptosis, Necrosis) 분석을 위하여 Staistical Package for the Social Sciences (SPSS) Version 1.0을 이용하였으며 실험결과는 평균 표준오차형태로 나타내며 그룹간의 통계적 유의성분석은 SPSS WIN ver, 12를 이용하여 일변량 분석과 사후검정방법을 이

**Table 1.** Radiation induced apoptosis (%) in peripheral lymphocytes of five donors who drunk 800 ml distilled water (P<0.05)

	Relative ratio of apoptosis (%) according to the radiation dose (Gy)					
	0	0.5	1.0	2.0	3.0	5.0
1	1.00	1.33	1.29	1.97	1.27	1.32
2	1.00	1.26	1.41	1.26	1.27	1.48
3	1.00	1.27	1.56	1.42	1.96	1.73
4	1.00	1.05	1.10	1.14	1.24	1.35
5	1.00	1.18	1.45	1.53	1.62	1.63

용하여 P value < 0.05를 기준으로 통계적 유의성을 검증하였다.

## 결 과

### 1. 맥주 섭취 전 선량에 따른 Apoptosis의 변화

자원자는 증류수(distilled) 800 ml를 마시고, 2시간이 경과된 후에 자원자의 혈액에서 채취한 말초혈액 임파구세포를 분리하여 방사선을 조사한 뒤, 60시간 동안 배양하고 측정된 Apoptosis율(평균±표준오차)과 자발성 Apoptosis율(1.0%)에 대한 상대적인 Apoptosis율(%)을 분석하였다. 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 5.0 Gy 선량에서 각각 1.22±1.0, 1.38±1.0, 1.47±1.2, 1.47±1.1, 1.50±1.2이었다. 방사선량이 점차 증가함에 따라 Apoptosis율은 통계학적으로 의미 있게 증가하였다 (Table 1, Fig. 1, 2).

### 2. 맥주 섭취 후 선량에 따른 Apoptosis의 변화

자원자 5명은 동일한 농도[800 ml: 평균(혈중 평균 Ethanol 농도) 81.5 mg/dl]의 맥주를 섭취 한 뒤, 2시간 후 채취한 혈액을 분리하여 분주하고, 임파구세포를 방사선조사하여 60시간 배양한 후의 Apoptosis율은(평균±표준오차) 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 5.0 Gy 선량에서 각각 0.97±1.2, 0.99±1.0, 1.11±0.9, 1.29±1.2, 1.15±1.1로 나타났다. 선량 증가에 따라서 완만한 상승을 보이나 정상 대조군에 비하여 상대적으로 Apoptosis의 유발율은 의미 있게 저감되는 것을 볼 수 있었으며, 맥주를 섭취하지 않은 대조군에 비하여 선량에 따라 각각 20.5%, 27.3%, 24.5%, 12.3%, 23.4%로 나타났으며, 전체 선량영역에서 평균 ±21.6% 감소되는 것으로 나타났다(Table 2, Fig. 1, 2).

### 3. 알코올이 없는 맥주(Alcohol 0.3% 이하) 섭취 후 선량에 따른 Apoptosis의 변화

평소 음주 습관대로 알코올이 없는 맥주 800 ml를 섭취하

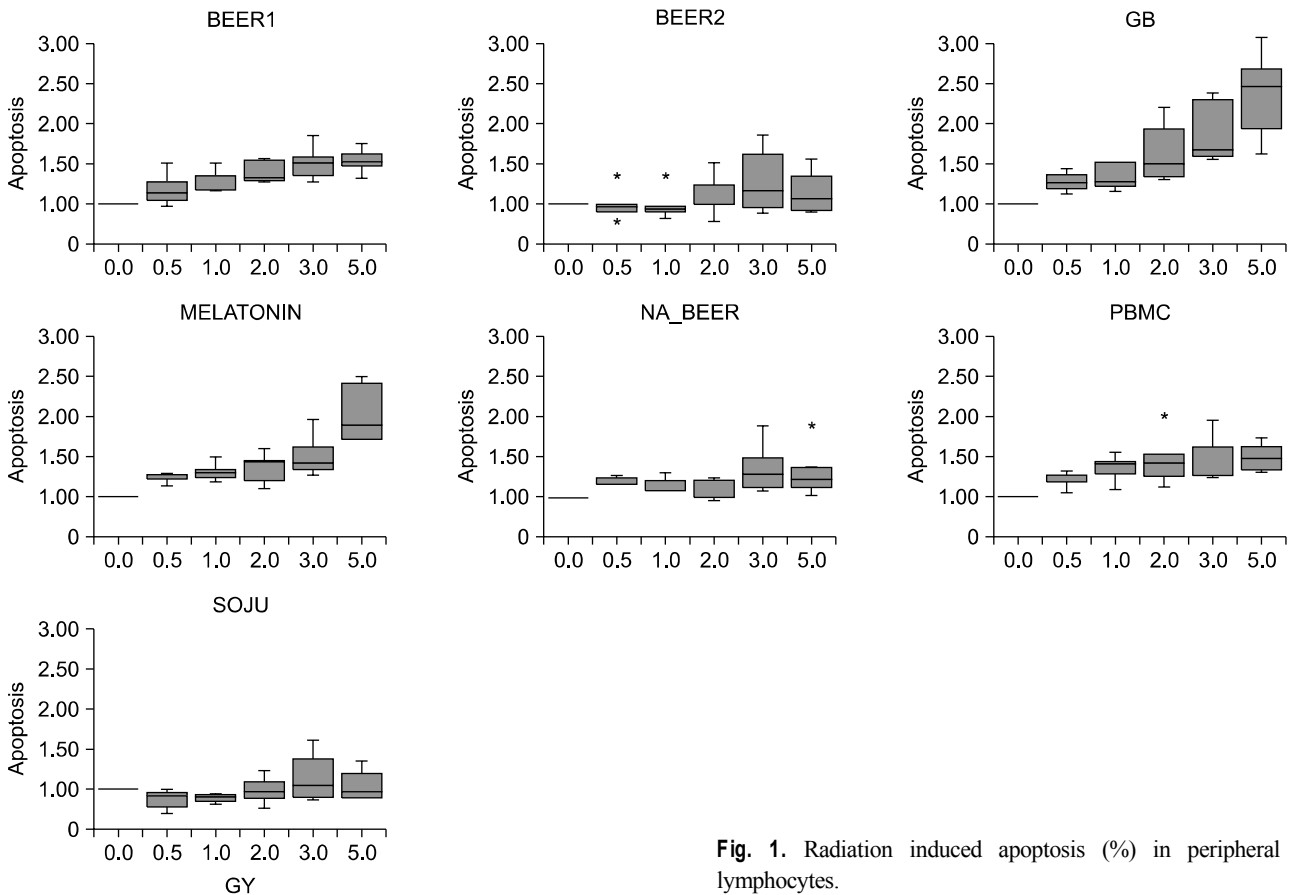


Fig. 1. Radiation induced apoptosis (%) in peripheral lymphocytes.

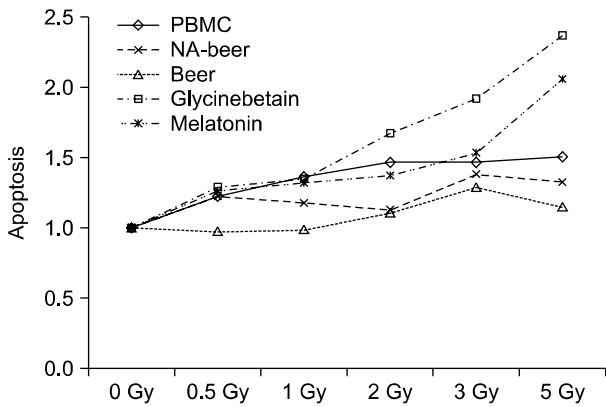


Fig. 2. Radiation induced apoptosis rate according in peripheral lymphocytes a shown.

게 하고 2시간 지난 뒤 혈액을 채취하여 임파구 세포만을 분리하여 분주하였다. 방사선을 0.5 Gy, 1.0 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 5.0 Gy를 조사한 후 상대적인 Apoptosis율은 각각 1.22±1.1, 1.17±1.0, 1.13±1.1, 1.38±1.2, 1.32±1.2이었다. Apoptosis의 유발율은 선량증가에 따라서 정상지원자대 조균에 비하여 상대적인 Apoptosis율은 저하를 보이나 그 감소의 비율이 선량에 따라 다르게 나타났다. 이는 0.5 Gy에서 0.0%, 1.0 Gy에서 14.0%, 2.0 Gy에서 20.5%, 3.0 Gy에서 7.5%, 5.0 Gy에서 12.0%로 감소된 것으로 전체 선량영역에서 평균 10.8% 저감효과를 보였다(Table 3, Fig. 2).

4. Melatonin 처리 후 선량에 따른 Apoptosis의 변화

맥주의 미량성분인 멜라토닌(melatonin)을 1 mM 농도로 혈액 중 임파구를 분주한 혈액에 첨가하고 방사선을 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 5.0 Gy을 조사한 후 측정된 상대적

Table 2. Radiation induced apoptosis in peripheral lymphocytes of five donors who drunk 800 ml beer (P<0.05)

	Relative ratio of apoptosis (%) according to the radiation dose (Gy)					
	0.0	0.5	1.0	2.0	3.0	5.0
1	1.00	0.70	0.82	0.79	0.87	0.89
2	1.00	0.96	0.96	1.24	1.63	1.36
3	1.00	0.89	0.92	1.00	1.16	1.06
4	1.00	1.01	0.89	0.98	0.94	0.91
5	1.00	1.30	1.33	1.52	1.86	1.55

Table 3. Radiation induced of apoptosis in peripheral lymphocytes of five donors who drunk 800 ml non-alcohol beer (P<0.05)

	Relative ratio of apoptosis (%) according to the radiation dose (Gy)					
	0.0	0.5	1.0	2.0	3.0	5.0
1	1.00	1.25	1.07	0.96	1.14	1.14
2	1.00	1.27	1.21	1.23	1.88	1.86
3	1.00	1.24	1.31	1.24	1.50	1.37
4	1.00	1.17	1.08	1.00	1.07	1.02
5	1.00	1.17	1.20	1.21	1.29	1.23

Table 4. Radiation induced apoptosis in peripheral lymphocytes were treated 1 mM melatonin of five donors (P<0.05)

	Relative ratio of apoptosis (%) according to the radiation dose (Gy)					
	0.0	0.5	1.0	2.0	3.0	5.0
1	1.00	1.32	1.24	1.11	1.28	1.72
2	1.00	1.30	1.31	1.45	1.42	2.51
3	1.00	1.23	1.52	1.61	1.97	2.42
4	1.00	1.28	1.18	1.21	1.36	1.72
5	1.00	1.15	1.36	1.47	1.63	1.91

**Table 5.** Glycine betain of relative apoptosis rate (%) according to the radiation dose (P<0.05)

	Relative ratio of apoptosis (%) according to the radiation dose (Gy)					
	0.0	0.5	1.0	2.0	3.0	5.0
1	1.0	1.21	1.23	1.32	1.56	1.63
2	1.0	1.37	1.53	1.92	2.31	2.47
3	1.0	1.44	1.53	2.22	2.41	2.69
4	1.0	1.14	1.16	1.36	1.60	3.10
5	1.0	1.26	1.27	1.49	1.69	1.94

Apoptosis율은 각각 1.25±1.0, 1.32±1.1, 1.37±1.2, 1.53±1.3, 2.06±1.9을 얻었다. 자발성 Apoptosis의 증가와 더불어 그 값은 정상대조군에 비하여 오히려 증가하는 경향을 보였다. 그 값은 0.5 Gy에서 2.4% 증가하였고, 1.0 Gy에서 2.5% 감소, 2.0 Gy에서 7.0% 감소하였다. 3.0 Gy에서는 4.0% 증가되었고 5.0 Gy에서 25.0% 증가하는 양상을 나타냈다(Table 4, Fig. 2).

**5. Glycine Betain 처리 후 선량에 따른 Apoptosis의 변화**

전 혈액 중 임파구만을 분리, 분주하고 글리신 베타인(농도: 50 mM)을 첨가한 다음, 방사선량을 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 5.0 Gy로 조사하고 이를 60시간 배양 후 측정 하였다. 그 값은 1.28±1.1, 1.34±1.2, 1.67±1.5, 1.92±1.3, 2.37±1.8로 나타났다. 이는 0.5 Gy에서 5.0% 증가하였고, 1.0 Gy에서 2.0% 감소와 2.0 Gy에서는 12.0% 증가, 3.0 Gy에서 24.0% 증가, 5.0 Gy에서 37.0% 증가를 보이는 것으로 분석되었다(Table 5, Fig 1, 2).

**고안 및 결론**

방사선 피폭에 의한 세포의 장애는 방사선의 전리작용에 의한 DAN 손상에서 기인된다. 미량의 방사선에서 DNA 손상이 일어나지만 인체는 그것을 수복하는 기능을 갖추고 있다. 그러나 대량의 방사선 피폭이나 어떤 원인에 의하여 손상된 DNA는 수복할 수 없으며 이는 세포사나 돌연변이 형태의 장애로 일어난다.

인체의 혈액중의 임파구세포는 방사선에 민감한 세포이며, 백혈구 중에서 가장 방사선에 민감하다.<sup>3)</sup> 이는 저 선량의 방사선으로 임파구의 Apoptosis를 유도할 수 있기 때문에 임파구세포를 방사선 피폭 여부를 판단하는 지표로 널리 이용되고 있으며 선량에 의존하여 세포사는 증가하는 반면 생존율은 같은 비율로 감소한다는 보고도 있다.<sup>3,4)</sup>

세포고사(Apoptosis) 또는 세포 예정사는 유전학적으로 질서 정연하게 조절되는 세포사의 한 형태로서 Kett 등이 처음 기술하였다.<sup>4)</sup> 이것은 생물체내에서 필요하지 않거나 손상을 받은 세포를 제거하는 정상적인 생리적 세포사(Programed cell death)를 의미한다.

일반적으로 세포사(Cell death)의 과정은 세포고사, 세포괴사의 형태로 나타나는데, 세포괴사(Necrosis)는 세포막 또는 세포질의 형태학적 변화가 일어나고 핵 및 핵막은 정상적인 형태를 유지하는 형태가 세포괴사이고, 세포막이나 세포소기관 등이 정상적인 형태를 유지하면서 우선 핵 내의 크로마틴이 응집하여 세포전체가 위축되고 단편화되어 Apoptosis 소체(Apoptosis body)를 형성하여 세포사(Cell death)에 이르는 경우가 세포고사(Apoptosis)이다.<sup>5)</sup>

방사선에 의해 세포사(Cell death)가 유발되었을 경우 문제는 살아있는 세포와 죽은 세포를 구분하는 것(세포사의 판정)으로 세포사의 판정법 중에서 분염법이 일반적으로 사용되고 있는데 살아있는 세포막은 색소를 투과시키지 않으나 세포가 손상을 받으면 막의 투과성이 변하여 색소가 세포내로 들어가서 염색이 된다.<sup>6,11,12)</sup> Apoptotic cell에서는 세포막이 존재하는 인지질인 Phosphatidylserin (ps)이 Plasma membrane의 안쪽에서 바깥쪽 면으로 위치가 바뀌게 됨으로서 PS가 세포외부 환경에 노출되어 지므로 염색이 된다.<sup>7,11)</sup>

Annexin V는 Calcium dependent Phospholipid Binding Protein으로서 PS와 높은 친화도를 나타내며 Cell에 노출되어 있는 PS가 결합한다(Flow Cytometer 분석을 위한 감수성 높은 Probes로 이용). 그리고 PS가 외부로 옮기는 현상은 Apoptosis 초기에 나타나기 때문에 Annexin V염색에 의한 분석은 DNA Fragment 같은 Nuclear Change에 근거한 Assay보다 좀 더 초기의 Apoptosis 단계를 분석할 수 있다.<sup>8,18,19)</sup> 그리고 Annexin V staining은 Apoptotic 또는 Necrotic processing의 마지막 단계인 세포사(Cell death) 단계를 동반하는 Membrane integrity의 Loss보다 먼저 일어난다. 물론 Propidium ioide (PI) 같은 Vita Dye와 Annexin V를 함께 염색하게 되면

Dead cell (죽은 세포)을 모두 정량할 수 있다(이 방법은 이미 Apoptosis가 일어난 죽은 세포와 Necrotic Pathway의 결과를 죽은 세포를 구분하지 못하는 경우도 있다).<sup>9,19)</sup>

따라서 본 실험에서는 PI에 염색된 비율과 Annexin V에 염색된 비율 그리고 PI+Annexin에 염색된 비율을 구분하여 분석에 적용하였다.<sup>10,12)</sup>

자원자 5명으로부터 증류를 섭취하고 채혈한 혈액과 맥주를 섭취하고 채혈한 말초혈액임파구 세포를 방사선에 조사시키고 또 맥주의 미량성분[멜라토닌(50~300 pg/ml), 글리신 베타인(80 ug/ml) 등]을 혈액에 첨가하여 동일한 방법으로 방사선 조사 후, 60시간 배양한 다음 Annexin V와 Propidium Iodide (PI)의 2중형광염색된 세포가 선량에 의해서 유발되는 세포의 생존율, 세포괴사율, 세포괴사의 비율을 유세포 분석기로 분석하였다.

방사선을 선량별로 조사시켜 유발된 Apoptosis 비율은 선량증가에 따라 유의성 있게 증가하였다. 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 5.0 Gy에서 각각  $1.22 \pm 1.0$ ,  $1.38 \pm 1.0$ ,  $1.47 \pm 1.2$ ,  $1.47 \pm 1.1$ ,  $1.5 \pm 1.2$ 이었다. 증류수를 섭취한 정상자원자대조군의 세포괴사 비율을 기준으로 하고, 맥주를 섭취한 후 채혈하여 분리 분주한 임파구 세포를 선량별로 조사한 뒤 그 상대적인 값으로 비교하였다.

이 비교에서 0.5 Gy에서 20.5%, 1.0 Gy에서 27.3%, 2.0 Gy에서 24.5%, 3.0 Gy에서 12.3%, 5.0 Gy에서 23.4%로 평균 21.5% Apoptosis율의 감소가 나타났다. 이러한 결과는 맥주 속에 어떤 성분들이 방사선 방어효과에 연관성이 있는 것으로 시사되었으며, 맥주 속의 미량성분뿐만 아니라 맥주에 함유된 알코올성분도 복합적으로 상승적 작용을 한 것으로 추측된다.

따라서 맥주에 포함된 알코올의 포함여부가 Apoptosis감소에 미치는 효과를 알아보기 위해 알코올이 없는 맥주를 섭취한 후 방사선 조사한 결과, 저 선량(0.5 Gy)에서는 효과가 거의 없었으나 1.0 Gy에서 14.0%, 2.0 Gy에서 20.5%, 3.0 Gy에서 7.5%, 5.0 Gy에서 12.0%로 감소되었으며, 전체 선량영역에서 저감된 Apoptosis의 비율이 약 10.8%로 나타났다. 이러한 결과는 맥주에 포함되어 있는 미량성분에 의한 방사선 저감작용과 함께 알코올성분도 Apoptosis 유발율의 저하에 어느 정도(10.8%) 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 이 알코올은 임파구세포에 방사선의 간접효과로 인해 발생한 자유 유리기에 대한 활성력을 잃게하여 DNA 손상을 저감하는 것으로 생각되며, 저 선량에서 보다는 비교적 고선량 영역(3 Gy~5 Gy)에서 저감 효과가 높은 것으로 생각된다. 그리고 맥주 섭취가 알코올 단독보다 높은 방사선 방어효과를 보였다.

한편, 맥주의 미량성분에 대해 저감효과를 확인하기 위해

미량성분(슈드우리딘, 멜라토닌, 글리신 베타인, 폴리페놀 등) 중에 멜라토닌과 글리신 베타인 두 성분을 대상으로 임파구 세포에 첨가하고 선량별로 방사선을 조사한 분석에서 멜라토닌의 경우 섭취 전에 대한 상대적인 비율은 0.5 Gy에서 2.4% 증가하였고, 1.0 Gy에서 2.5% 감소되었으며, 2.0 Gy에서 7.0%로 감소되었고, 3.0 Gy에서 4.0% 증가하였으며, 5.0 Gy에서는 무려 25.0%까지 증가하는 양상을 보였다.

즉, 저 선량에서는 저감효과를 인정할 수 있으나 선량이 높은 경우(5 Gy)에는 저감효과가 낮아지는 것을 알 수 있었다. 그러나 임파구세포의 전체 생존율은 변화가 없는 상태에서 세포괴사의 비율이 증가하고 세포괴사 비율이 감소하는 것으로 미루어봐서 세포괴사의 과정으로 세포사로 이행되거나 아니면 다른 과정을 통해서 세포사에 이르는 것으로 추측할 수 있겠다.

또한 이러한 현상은 혈액에 첨가한 멜라토닌의 농도(50 mM)가 다소 낮아서 일어나는 것으로도 이해할 수 있으며, 멜라토닌의 단일성분만으로 Apoptosis 저감효과에 영향을 주지 못하는 것으로 생각할 수 있겠다. Radogna 등<sup>12,13)</sup>이 Monocyte cell에 대한 연구에서 멜라토닌 첨가한 경우에 무첨가군에 비해서 40~50%의 효과가 인정된다고 하였으나, 이 실험의 경우는 임파구세포가 아닌 단핵세포에 대한 결과이므로 본 실험의 임파구세포와 다른 결과를 나타낸 것으로 생각된다.

한편 맥주와 식품첨가물에 들어있으며 DNA 손상을 보호하는 효과가 있는 Glycine Betain의 경우에는 저 선량(0.5 Gy)에서는 5.0%정도 증가하였으나 1.0 Gy에서 2.0% 감소와 2.0 Gy에서 12.0% 증가, 3.0 Gy에서 24.0% 증가, 5.0 Gy에서는 37.0%까지 증가하는 결과를 보인다. 즉 개개인에 대해 저감율은 심한 차이를 보였으며, 저선량 영역에서는 다소 저감효과를 인정할 수 있었다. 그러나 전체선량영역에서는 뚜렷한 저감효과를 나타내지 않았다.

Monobe 등<sup>15,17)</sup>은 전혈(Whole blood)을 이용하여 Caronion beam과 X-ray를 조사한 후에 DNA fragement로 측정한 실험에서 Glycine Betain 성분에서 각각 17%와 30%의 방어효과를 보였다고 하였으나, 이 결과는 임파구세포가 아닌 전혈로 분석한 결과이며 또한 분석 방법에서 차이가 있는 것으로 생각할 수 있다. 그리고 본 실험에서는 세포 배양시간을 60시간으로 고정하여 분석한 결과로 배양시간(60시간)에 의해서 상대적으로 Apoptosis의 비율이 높게 측정된 것(만발 Apoptosis의 가중)과 분석방법의 차이에서 오는 결과도 한 원인일 것으로 생각된다.

알코올농도에 따라 Apoptosis 유발율의 분석에 여러 난제가 있었다. 그리고 맥주속에 함유된 미량성분들의 각각에 대

하여 세포고사의 저감정도를 분석하는데 다소 어려운 부분이 있었다. 향후 이들 미량성분들에 대한 연구가 더 필요한 것으로 사료된다.

맥주에 의한 방사선 방어효과를 알아보기 위해 정상인의 말초혈액 임파구세포를 이용하여 방사선조사 후 이를 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 맥주에 의한 Apoptosis 저감효과는 0.5 Gy에서 20.5%, 1.0 Gy에서 27.3%, 2.0 Gy에서 24.5%, 3.0 Gy에서 12.3%, 5.0 Gy에서 23.4% 감소로 전체 선량영역에서 평균 21.5%의 감소 효과가 있었다.

2. 무알콜 맥주의 경우 섭취 전에 비해 0.5 Gy에서 0.0%, 1.0 Gy에서 14.0%, 2.0 Gy에서 20.5%, 3.0 Gy에서 7.5%, 5.0 Gy에서 12.0%로 전체 선량영역에서 평균 10.8% 감소효과가 있었다.

3. 멜라토닌(Melatonin)의 경우 0.5 Gy에서 2.4% 증가, 1.0 Gy에서 7.0% 감소, 3.0 Gy에서 4.0% 증가, 5.0 Gy에서 25.0% 증가하였다.

4. Glycine Betain의 경우 0.5 Gy에서 5.0% 증가, 1.0 Gy에서 2.0% 감소, 2.0 Gy에서 12.0% 증가, 3.0 Gy에서 24.0% 증가, 5.0 Gy에서 37.0% 증가되었다.

맥주에 의한 방사선 방어효과를 확인하기 위해 유세포분석기로 세포고사(Apoptosis)율을 분석하였다.

맥주에 의해 약 21%의 Apoptosis 유발율을 감소하는 결과로부터 방사선방어효과를 확인하였다. 그러나 맥주의 미량성분에 대하여 세포고사의 방어효과는 그 효과가 미미함을 알 수 있었으며, 맥주에 함유된 알코올성분도 약 10.8% 정도 방어효과가 있는 것으로 사료된다.

### 참고문헌

1. 조와조, 요시자와 야스오 저: “의사의 증언 나가사키 원폭체험”, 도쿄대학 출판회, 일본;1982
2. Roots R, Okada S: Protection of DNA molecules of cultured mammalian cells from radiation-induced single-strand scissions by various alcohols and SH compounds. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1972;21:329-342
3. Ulmer AJ, Scholz W, Ernst M, Brant E, Flad HD: Isolation and subfractionation of human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) by density gradient centrifugation of Percoll. *Immunobiology* 1984;1663:238-250
4. Monobe M, Ando K: Glycine betaine, a beer componet, protects radiation-induced injury. *J Radiat Res* 2005;46:117-121
5. Hall EJ: *Radiobiology for the radiologist*. 5th ed. Philadelphia: Uppincott Willans & Wilkins, 2000;347-349
6. Sellins KS, Cohen JJ: Gene induction by gamma-irradiation leads to DNA fragmentation in lymphocytes. *J Immunol* 1987;139:3199-3206

7. Delic J, Morange M, Magdelenat H: Ubiquitin pathway involvement in human lymphocyte gamma-irradiation induce apoptosis. *Mol Cell Biol* 1993;13:3199-3206
8. Cregan SP, Boreham DR Walker PR, Brwon DL, Mitchel REL: Modification of radiation-induced apoptosis in radiation or hyperthermia-adapted human lymphocytes. *Bio Chem Cell Biol* 1994;72:475-482
9. Staunton MJ: Basic conepts and potential significance in human cancer. *Art Pathol Lab Med* 1990;122:310-319
10. Vermis I, Haanen C, Richel DJ, Schafsma, MR, Kalsbeek-baten burg E, Reulelingsperger CPM: Apoptosis, and secondary necrosis of lymnphocytes in culture. *Acta Haenatol* 1997;98:8-13
11. 김상경, 신동건, 최지훈 외 3명: Quantifation of the early apoptotic cells using flow cytometry Korean. *J Clin Pathol* 1999;19:108-113
12. 오윤경, 이태범, 남태근, 기근송, 최철희: 말초혈액내 림프구의 방사선에 의한 아포프토시스. *대한방사선종양학회지* 2003; 21:75-81
13. Kerr JFR, Wylle AH, Carrie AR: Apoptosis A basic biological phenomenon with wide-ranging implication in tissue Kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-257
14. Wilins RC, Kutzer BC, Trung M, Sanchez-Dardon J, Mclean JRN: Analysis of radiation-induced apoptosis in human lymphocytes flow cytometry using annexin V and propidium iodide versus the neutral comet assay wiley-liss, inc. *Cytometry* 2002;48:14-19
15. Lee R, Sander P, Fournier M, Scholz C, Meijer A, Ritter S: Radiation-induced apoptosis in human lymphocytes Karolinka institute, stockholm, Sweden
16. Alireza S, Ghazaleb G, Mahmoud GK: J radiobiological review on melatonin. A navel radioprotector. *J Radiat Re* 2007;263-272
17. Erken Y, Yildiz G, Mehrnet AE: Lake of a time-dependent effect of melatonin on radiation-induced apoptosis in cultured rat lymphocytes. *International Biology Cell* 2007;1-6
18. Manami M, Akiko U, Makiko H, Koiki A, Shuji K: Glycine betain, a beer component protects radiation-induced injury. *J Radio Res* 2005;46:117-121
19. Manami M: Glycine betaine, human whole-blood a beer component, 137Cs r-ray 290MeV C-ion, protects radiation-induced injury. *J Radiat Res* 2005;46:117-121
20. Evenson D, Darzynkiewicz Z. Jost, Janca F, Ballachey B: Changes in accessibility of DNA to various fluorochromes during spermatogenesis. *Cytometry* 1986;7:45-53
21. Darzynkiewicz Z, Bruno S, Del Bino G, et al.: Features of apoptotic cells measured by flow cytometry. *Cytometry* 1992;13:795-808
22. Martin SJ, Reuteligspenger CPM, McGahon AJ, et al.: early redistribution of plasma membrane phosphatidylserine is general feature of apoptosis regardless of the initiating stimulus: inhabitation by over expression of Bcl-2 and Abl. *J Exp Med* 1995;182:1545-1556

Abstract

## Studies on Radiation Protection Effect of the Beer

Jong Gi Sohn, Tae Young Ha, Chul Hyan Hwang, Young Hwa Lee

Department of Radiation Oncology, Busan National University Hospital, Busan, Korea

**Purpose:** In this study, it was investigated whether commercially produced beer is able to prevent a lymphocyte from radiation induced apoptosis.

**Materials and Methods:** Whole blood samples were acquired from 5 healthy volunteers (male, 26~38 years old) and the lymphocyte were isolated by density gradient centrifugation. Radiation induced apoptosis of the lymphocyte were investigated by 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy to 5.0 Gy irradiation. In some experiments, the donor drunk beer and then blood samples were collected. In other experiments, melatonin or glycine betain was added to lymphocyte culture medium. Treated or untreated lymphocytes were cultured for 60 hours and radiation induced apoptosis of the lymphocyte was analyzed by annexin-V staining through flow cytometry.

**Results:** Relative radiation induced apoptosis ratio of the untreated lymphocytes is  $1.22\pm 1.1$ ,  $1.22\pm 1.1$ ,  $1.38\pm 1.0$ ,  $1.47\pm 1.1$ ,  $1.50\pm 1.2$  by radiation dose of 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy and 5.0 Gy respectively. Relative radiation induced apoptosis ratio of lymphocytes is isolated from beer drunken donors is  $0.97\pm 1.0$ ,  $0.99\pm 1.0$ ,  $1.11\pm 0.9$ ,  $1.29\pm 1.1$ ,  $1.15\pm 1.1$  by radiation doses respectively which are reduced 21.5% compared with untreated lymphocyte. Relative radiation induced apoptosis ratio of the lymphocytes is isolated from non-alcohol beer drunken donors is  $1.22\pm 1.1$ ,  $1.17\pm 1.1$ ,  $1.13\pm 1.3$ ,  $1.38\pm 1.2$ ,  $1.32\pm 1.1$  by radiation dose of 0.5 Gy, 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy and 5.0 Gy respectively which are reduced 10.8% compared with the untreated lymphocyte.

**Conclusion:** As a result, it is suggested that beer may protect the lymphocyte from radiation damage and inhibit apoptosis.

---

**Key words:** radiation protect, lymphocyte, apoptosis, flow cytometry