

^{18}F 동위원소 피폭에 의한 금붕어 장관 평활근의 수축활성문경희 · 옥치일 · 조승일 · 이종규 · 길상형¹ · 서원찬² · 이병우² ·
손희영³ · 고혜진³ · 박남규^{3*}부경대학교 물리학과, ¹부산대학교병원 핵의학과, ²부경대학교 신소재공학부,
³부경대학교 생물공학과**Contractile Activity of Goldfish Intestine Exposed to ^{18}F Isotope**Gyeong Hee MOON, Chi Il OK, Seung Il CHO, Jong Kyu LEE,
Sang Hyeong KIL¹, Won-Chan SEO², Byung-Woo LEE²,
Hee Young SOHN³, Hye-Jin GO³ and Nam Gyu PARK^{3*}

Department of Physics, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Department of Nuclear Medicine, Pusan National University Hospital, Busan 602-739, Korea²Major of Materials Processing Engineering, Pukyong National University, Busan 608-739, Korea³Department of Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Goldfish were exposed to radioactive isotope ^{18}F , which is used for positron emission tomography (PET). ^{18}F is created when the oxygen in water combines with hydrogen on exposure to positrons accelerated by a cyclotron. The temporal change in intestine contractility was measured by physiograph after the exposure to ^{18}F . The distance between the goldfish and 580 mCi of ^{18}F was approximately 4 cm and the exposure was for 4 hrs. The absorption level calculated from the distance, exposure time, and half-life of ^{18}F was approximately 2 Gy. The contractile activity of goldfish intestine was lowest on the first day and increased gradually to 100% of the control level by a period of between 5 and 36 days.

Key words: Radiation, Goldfish, Intestine, Contractibility

서 론

PET (positron emission tomography: 양전자단층촬영)는 양전자를 방출하는 동위원소를 표지한 방사성의약품을 환자에게 정맥주사 또는 흡입으로 투여 후 그 분포를 영상으로 구현, 인체내 각 장기 기능과 생화학적 및 생리적 반응을 분석하여 질병진단에 이용되고 있는 최첨단 의학기술이다. PET에 이용하는 방사성동위원소는 의료용 양전자 방출핵종인 F-18, O-15, N-13 등이다. 이들 핵종은 반감기가 매우 짧아 인체 내에서 곧 사라지는 특성을 가지고 있다. 양전자 방출체에서 방출된 양전자는 물질과의 상호작용으로 그 에너지를 잃고 난 후 주변의 전자와 결합하여 0.51 MeV의 γ -선 두 개를 방출한다. 이러한 것을 양전자 소멸 또는 쌍소멸이라고 하는데, 쌍소멸에 의해 생성된 두 개의 감마선은 반대방향으로 진행한다. 이렇게 발생한 γ -선이 수조 속에 있는 금붕어에 방사선 피폭을 유발한다. 생물체가 방사선에 피폭되면 생물체를 구성하는 고분자(등)이 에너지를 흡수하여 물리학적 변화 단계를 거쳐 수소원자 (hydrogen atom, $\cdot\text{H}$), 수화전자 (hydrated electron, e_{aq}^-), 그리고 수산화기 (hydroxyl radical, $\text{OH}\cdot$)와 같은 일차 유리기들이 형성된다. 이러한 유리기들은 세포 내에서 생체를 구성하는 분자의 구조적 변화를 야기하고 (Fridovich, 1986), 이것이 원인이 되어 효소 활성화의 저하와 DNA, 지질 및 단백질 등이 손상될 뿐만 아니라, 세포막의 불포화 지방산

과 일련의 연쇄반응을 통하여 지질의 산화가 유발됨으로써 (Emerit and Chaudiere, 1989), 각종 생물학적 장애가 일어난다. 전신에 방사선조사를 받은 후에 생긴 증상이나 증후들을 방사선증후군이라 하며 각 장기의 세포학적 특성에 따라 나타나는 증후와 증상은 다르다 (Prasad, 1982). 특히 소장은 다른 장기 에 비하여 방사선에 대한 감수성이 큰 것으로 알려져 있으며, 소장의 자발적 수축은 세포막 전압의 주기적 탈분극 현상인 서파에 기인한다 (Ohba et al., 1975; El-Sharkawy et al., 1978). 하지만, 서파 그 자체만으로는 큰 수축은 일어나지 않으며 여기에 자율신경계에서 분비되는 여러 신경전달 물질들과 호르몬 및 약물 등이 작용하여 진정한 형태의 수축을 유발시키고 있다 (Demol et al., 1989). 척추동물의 부교감신경과 운동 신경에서 자극을 전달하는 물질인 아세틸콜린 (acetylcholine: Ach)은 장관평활근에 대해 강력한 흥분성 수축을 나타내는 인자로 잘 알려져 있으며, 이는 장에 있는 무스카린 수용체에 결합하여 안정막 전압을 저분극 시킴으로써 여러 이온전류들에 영향을 주고 이 무기 이온들이 근원섬유 구성단백질인 myosin, actin 등과 상호 작용하여 화학적 에너지를 기계적 에너지로 바꾸게 된다 (Morimoto and Harrington, 1974; Pollard and Cooper, 1986). 이러한 근육운동의 조절기작에 관한 연구는 actomyosin system에 ATP, Mg 및 relaxing factor 존재 하에 Ca를 첨가할 경우 초침전 반응과 ATPase활성을 나타낸다는 보고 (Weber and Winicur, 1961)로부터 시작되어 X-ray diffraction 연구를 통하여 근수축 조절물질로서 Ca의 조절

*Corresponding author: ngpark@pknu.ac.kr

기능이 밝혀짐으로써 Ca와 근원섬유단백질의 상호작용에 의한 근수축-이완의 분자론적인 기작을 이해하는 것이 가능하게 되었다 (Moore et al., 1970). 이러한 장관의 수축력 및 수축에 작용하는 여러 인자들에 대하여 육상동물 및 어류들에 대한 실험이 많이 이루어져 왔지만, 방사선을 조사시킨 어류의 장관평활근의 운동에 대하여는 밝혀진 바가 없다.

본 연구에서는 양전자단층촬영 (PET)시 많이 사용되는 동위원소인 ¹⁸F을 사용하여 양전자에 노출시킨 금붕어 장관평활근의 수축활성을 측정함으로써 방사선 조사가 금붕어 장관평활근의 수축활성에 어떠한 영향을 미치는지에 대해 알아보고자 본 연구를 시작하였다.

재료 및 방법

실험동물

본 연구에 사용된 금붕어는 1-2년생인 전장 14 cm 내외, 무게는 50-70 g 정도였고, 24-26°C의 실험환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

양전자노출과정

금붕어를 양전자에 노출시키기 위하여 ¹⁸F을 사용하였다. ¹⁸F은 방사성동위원소 중 양전자 방출핵종으로 가장 많이 생산되는 것이다. ¹⁸O을 농축하여 수소를 결합시켜 만든 물에 사이클로트론으로 가속한 양성자를 쬐어주면 O-18의 원자핵에 양성자가 들어가면서 중성자가 하나 떨어져 나오는 반응이 일어나게 되는데 이때 ¹⁸F이 생성된다. 본 실험에서는 부산대학교 병원에 있는 사이클로트론을 사용하여 ¹⁸O를 농축하여 수소를 결합시켜 만든 물에 사이클로트론으로 1시간 가속시킨 18 MeV의 에너지를 가지는 양성자로 ¹⁸F 580 mCi를 생성하였다. ¹⁸F 580 mCi를 납으로 밀폐된 공간에 두고 선원으로부터 4 cm 떨어진 위치에 금붕어 50마리를 두어 4시간 동안 노출시켰다. 이때 금붕어가 흡수한 선량은 아래 식을 이용하여 거리·시간·반감기 등을 고려하여 계산한 결과 약 2 Gy가 됨을 확인

하였다.

$$D = 34 \frac{(\mu_{en}/\rho)_m}{(\mu_{en}/\rho)_a} X \tag{1}$$

여기서 $(\mu_{en}/\rho)_m$ 와 $(\mu_{en}/\rho)_a$ 는 질량 에너지 흡수 계수이고 X는 조사선량이다.

금붕어 장관에 대한 수축활성 측정

금붕어 장관표본을 만들기 위해 먼저 피폭된 금붕어의 중추신경을 절단하여 복부를 절개한 후, 장관을 약 2.0-3.0 cm 길이로 적출하였다. 모세혈관 및 adipose 등을 제거한 후, 장관의 길이가 약 1.0 cm가 되도록 단편을 만들었다. 이 과정은 buffer 상에서 행하였으며, 조성 (mM)은 다음과 같다: NaCl 110, KCl 2, CaCl₂·2H₂O 1, Glucose 10, and Tris-HCl (pH 7.8) 5.

방사선을 피폭하지 않은 금붕어를 대조군 (C)으로 사용하였으며, 방사선에 노출된 금붕어의 장관평활근의 수축활성 변화를 시간의 경과에 따라 측정하였다. 장관평활근 수축활성을 측정하기 위해 Fig. 1과 같이 먼저 준비된 장관의 아래쪽 말단을 반응조의 지지봉에 고정하고 다른 한쪽 끝을 physiography system (NEC-Sanei, Tokyo, Japan)의 isometric transducer에 연결하였다. 연결한 장관에 1.0 g의 장력을 준 뒤, 실온에서 60분 동안 15분 간격으로 완충액을 교체하면서 안정화시켰고, 활성측정은 실온에서 반응조 내에 공기를 주입하면서 안정화시켰다. 이때 수축활성을 측정하기 위해 10⁻⁶ M Ach을 사용하였다. 수축활성은 양전자 노출 후 2시간, 1일, 5일, 6일, 9일, 12일, 15일 및 36일 동안 측정하였다.

통계처리

양전자 조사 후 시간경과에 따른 수축성 변화를 검토하기 위해 실험동물인 금붕어를 양전자 조사 전 금붕어 10마리에 대한 수축활성을 측정하여 그 평균값을 대조군 (C)으로 하였고, 양전자 조사 후 시간경과에 따라 4마리씩 각각 수축활성을 측정하여 그 평균값을 총 8개의 실험군으로 분류하였으며,

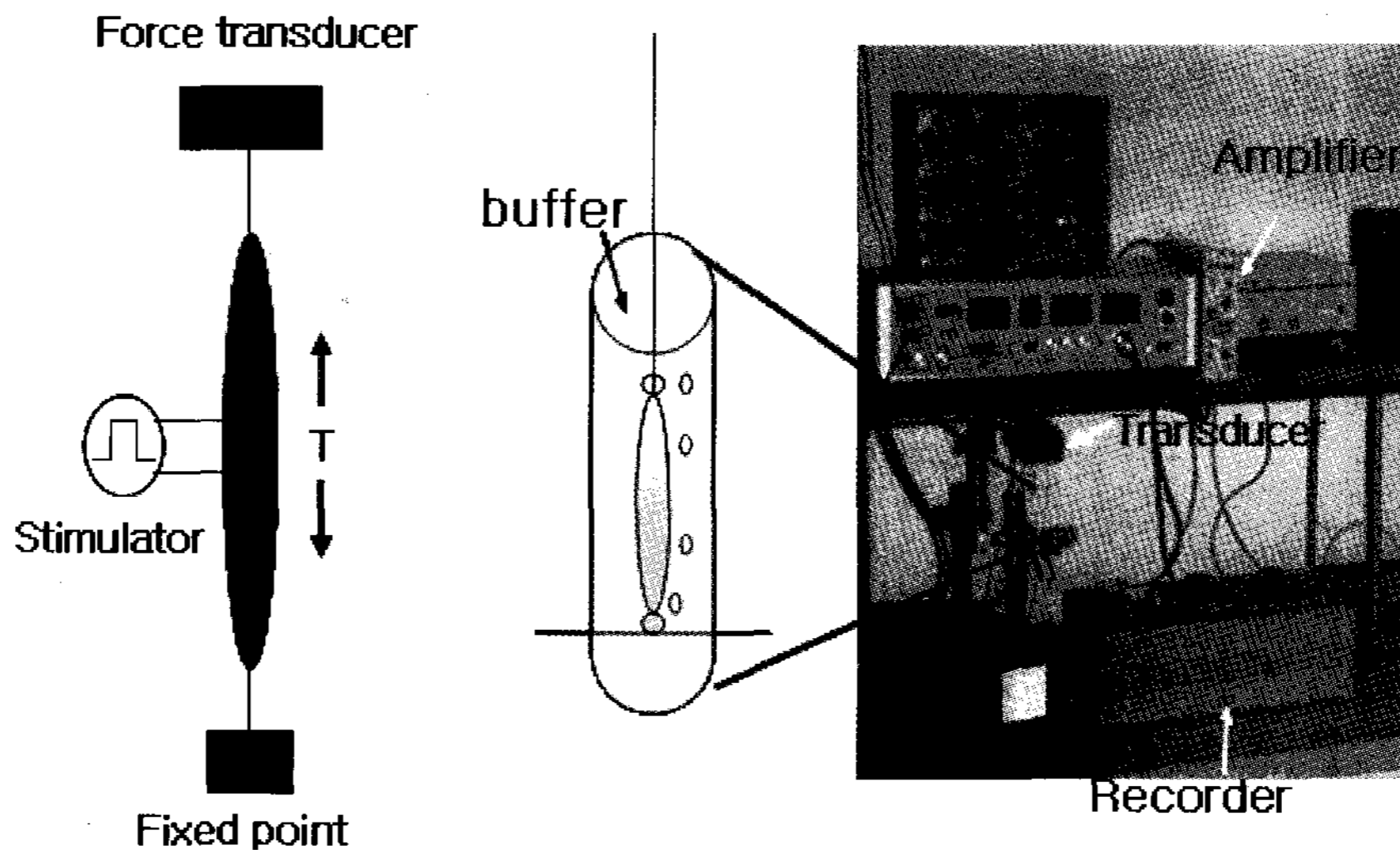


Fig. 1. Experimental setup.

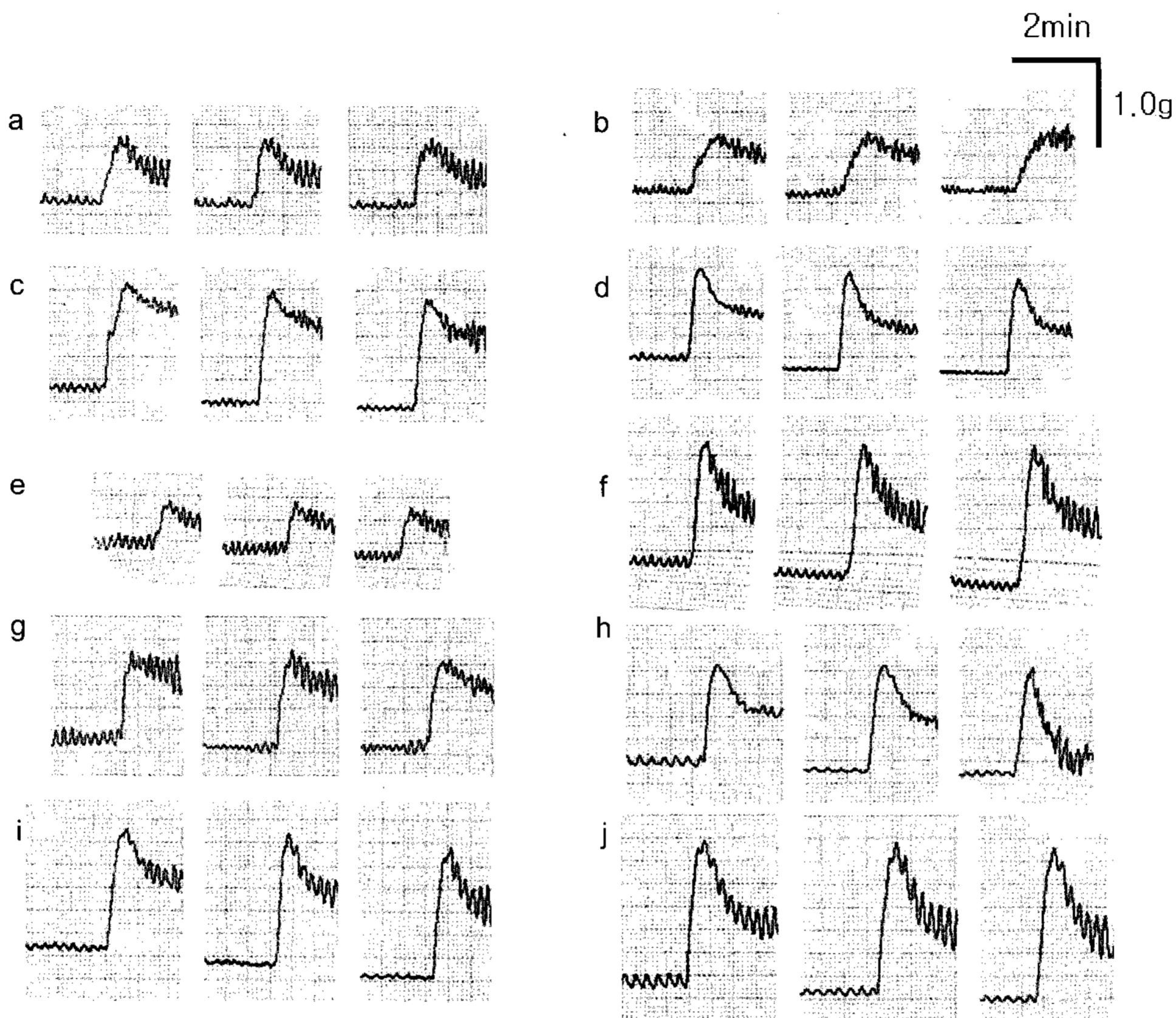


Fig. 2. Contractility changes of the goldfish intestinal smooth muscles without irradiation.

모든 반응 값은 mean±SE로 표시하였다.

결과 및 고찰

방사선에 피폭된 금붕어의 장관의 수축활성을 관찰하기 위해 대조군으로서 금붕어 10마리의 장관평활근에 10⁻⁶ M Ach을 투여하여 수축활성을 측정하였다. 그 결과, 금붕어의 장관평활근의 수축활성에 대한 평균값은 0.8±0.2 g으로 나타났다. Fig. 3은 방사선을 조사시킨 후 시간경과에 따라 Ach 10⁻⁶ M의 금붕어 장관평활근에 대한 수축활성 변화를 나타낸 것이다. Fig. 3A에서 같이 피폭 2시간 후의 수축활성은 0.4 g으로 대조군과 비교하면 그 활성이 50% 감소하였다. 방사선에 조사시킨 후 1일 경과 후의 장관수축활성의 평균값은 0.2 g으로 그 활성이 75% 감소하였다 (Fig. 3B). 그러나, 흥미롭게도 장관평활근의 수축활성의 평균값은 5일째 0.4 g으로 조사 1일의 수축활성과 비교해보면 약간 증가를 하였으며, 대조군과 비교하여 38% 수축활성이 감소하였다 (Fig. 3C). 조사 6일째 수축활성변화는 조사 5일째의 활성변화와 유사한 경향을 나타내었다 (Fig. 3D). 조사 9일째부터는 0.6 g 중의 수축활성을 나타내어 대조군에 비해 50% 정도 활성이 감소하였다 (Fig. 3E). 방사선 조사 후 12일째와 15일째의 수축활성은 약 0.6 g으로 9일째의 활성변화와 유사한 반응을 나타내었으며 (Fig. 3F, G), 대조군과 비교하여 25% 감소한 값을 나타내었다. 방사

선 조사 후 36일째의 장관 평활근 수축활성은 0.9 g으로 대조군과 비교하여 오히려 13% 활성이 증가하는 양상을 보였다 (Fig. 3H). 따라서, Fig. 4에서 나타내듯이, ¹⁸F를 금붕어에 4시간 동안 피폭시킨 후 시간경과에 따른 금붕어 장관 평활근의 수축활성을 대조군과 비교하였을 때, 1일째에 해당되는 경우, 활성이 가장 낮았다. 그러나, 5일째부터 수축활성이 회복하기 시작하여 15일 경과한 후에는 대조군의 활성과 비교하여 50%의 활성을 나타내었다. 약 1개월이 지난 후에는 원래의 활성과 비슷한 수준으로 회복되었음을 확인하였다. 방사선조사 후 근육에서 나타나는 손상 및 후유증은 방사선의 직접적인 영향으로 대사이상을 유발하고 이차적으로 세포괴사를 일으키며, 시간이 경과하면서 나타나는 근육의 손상은 혈관손상으로 허혈성 변화의 결과이다 (Remy et al., 1986). 방사선조사 시 방사선의 에너지가 조직에 직접 작용하여 조직의 손상을 일으키거나 방사선이 물 분자로 에너지를 전이시켜 과산화수소, 반응성수산화기, 초산소기 등을 형성하여 간접적으로 조직을 손상시키며, 방사선을 조사한 경우에는 자유산소기의 작용으로 세포는 종창되고 막의 투과도가 증가하며 세포는 방사선의 작용으로 직접 사망하거나 핵산의 변화로 2-3회 분열 후 세포 치사가 일어나게 된다 (Henderson and Miller, 1986). 방사선에 의한 조직의 손상은 초산소기와 반응성수산화기가 형성되어 나타난다 (Kong and Davison, 1981). 6-10 Gy의 방사선을 조사하면

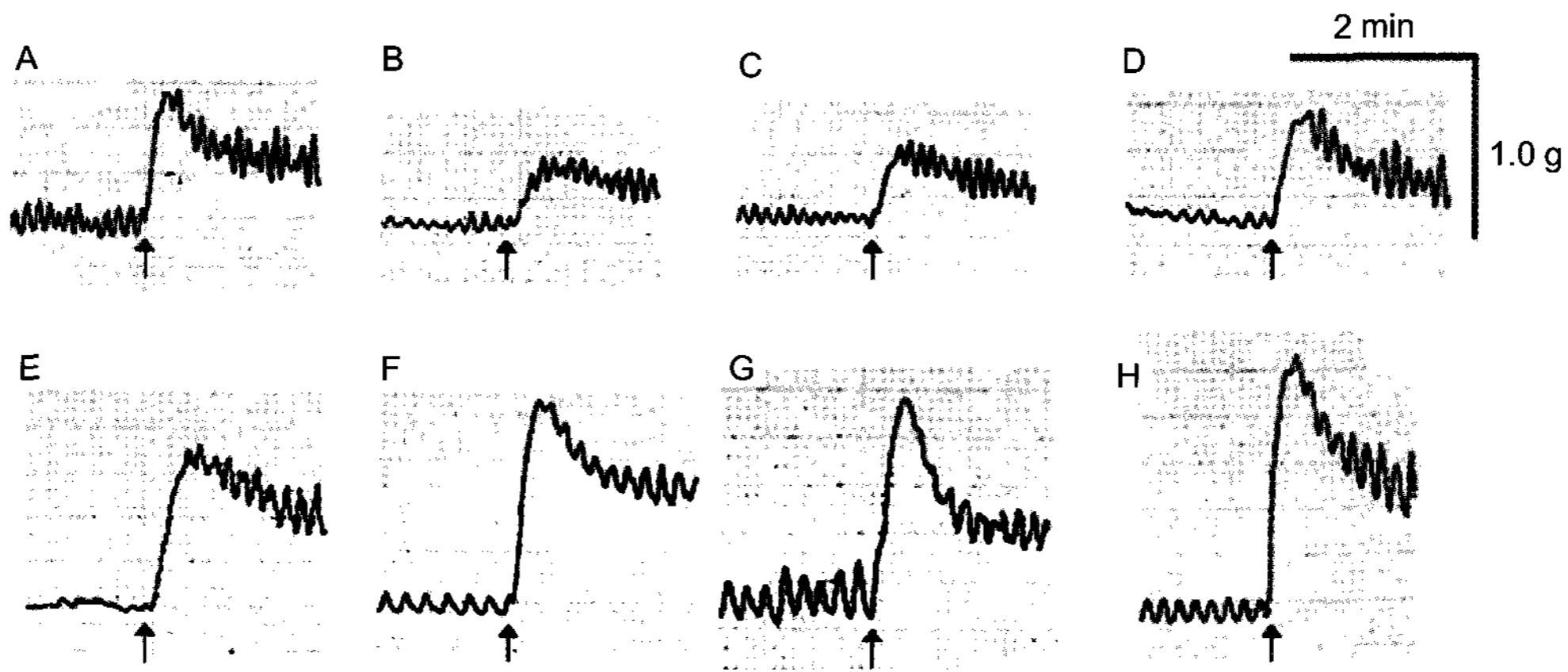


Fig. 3. The change of intestine contractility of the goldfish intestinal smooth muscles after the exposure to the ¹⁸F isotope. A, after 2 hours; B, after 1 day; C, after 5 days; D, after 6 days; E, after 9 days; F, after 12 days; G, after 15 days; H, after 36 days. Each upper arrow represents Ach 10⁻⁶ M applied to the intestinal smooth muscle of the goldfish *Carassius auratus*.

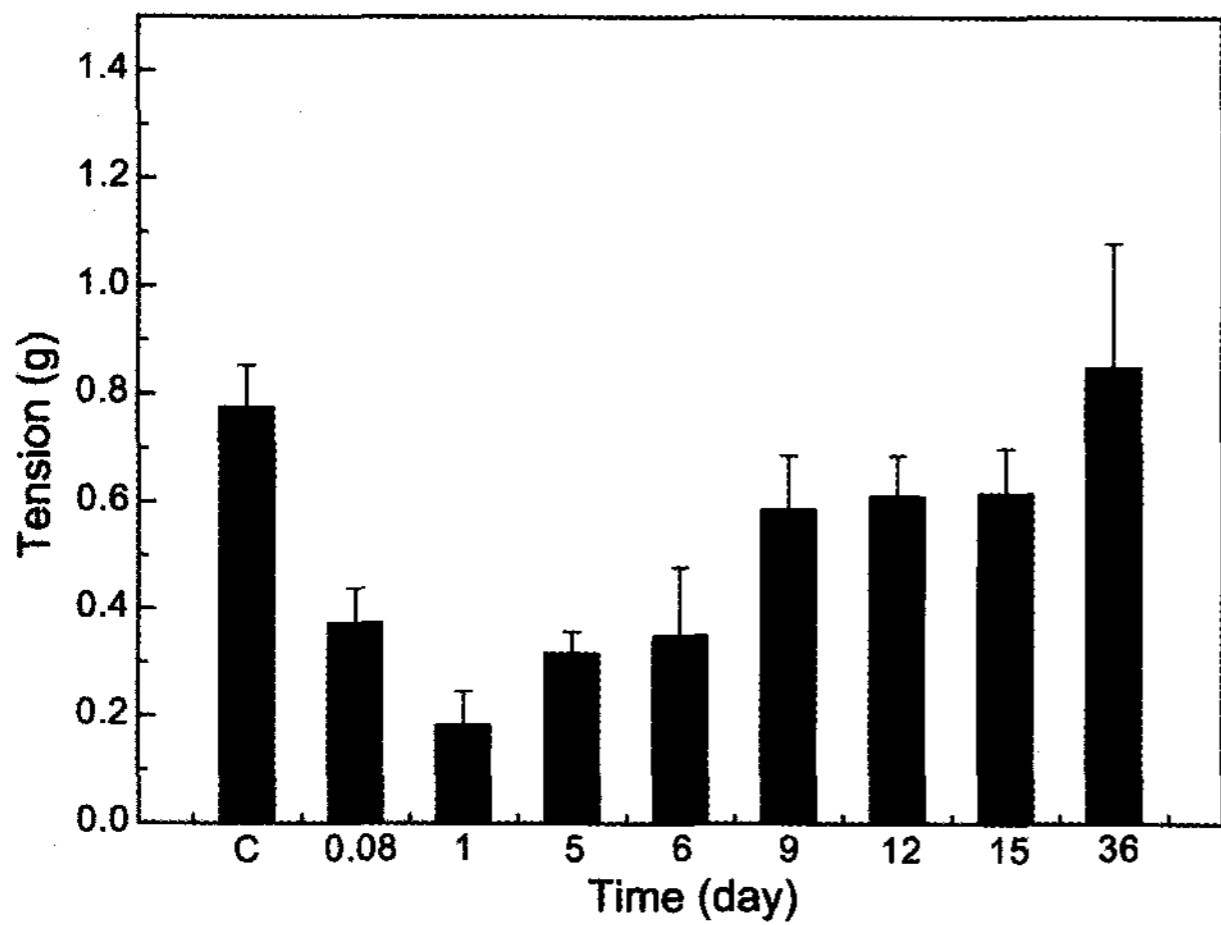


Fig. 4. The irradiation effect of contractility changes on the intestinal smooth muscles of the gold fish *Carassius auratus*.

방사선의 작용으로 막 구조 및 막의 투과도와 단백질합성이 변화하고 간접적으로는 세포자멸현상이 일어나고, 방사선 조사 시 평활근의 활성이 감소하는 것은 방사선의 작용이 자유기에 의하여 나타나는 것을 의미한다 (Gudz et al., 1994). 11-13 Gy의 방사선을 조사받은 흰쥐의 뼈대근육에서는 24시간 경과 후 근육섬유의 부종으로 근육원섬유 사이의 거리가 증가하고 근육미세섬유가 일부 파괴되며 사립체의 변성이 나타나고 시일이 경과하면서 근육 원섬유의 용해, 당원과립의 감소, 근육섬유의 괴사, 근육위축 및 혈관괴사가 나타난다. 이러한 변화는 방사선에 의한 직접적인 근육손상과 미세순환 및 대사장애에 의한 2차적 손상이 복합적으로 나타난 결과이다 (Khan, 1974). 방사선이 생체에 조사되면 세포의 분자를 이온화시켜 OH 및 O⁻ 등의 유리기가 생성되고 이 유리기가 세포 자체에 손상을 주게 된다 (Sonntag and Hagen., 1981). 방사선에 의해 막지질의 과산화 (Yatvin et al., 1984; Konings, 1984),

반응성수산화기 (hydroxyl radical)의 작용에 의한 핵산의 파괴 (Jones and O'Neill, 1990) 등이 일어나 세포의 구조가 파괴됨으로서 그 기능이 손상된다. 이러한 손상은 대부분 체내에서 복구기전에 의해 복구되며, 일부 세포는 복구되지 못하고 변형된 상태로 남아있게 된다. 방사선의 생물학적 영향으로는 생물체에 대한 방사선의 효과가 피폭 후 1-2개월 내에 나타나는 급성효과와 오랜 시일이 경과한 후에 일어나는 만성효과로 구별할 수 있다. 사람의 경우에 0.25 Gy 이하의 피폭에서는 특별한 임상증상이 나타나지 않고, 2 Gy의 피폭에서는 백혈구나 림프구 등이 감소하고, 사망률은 5% 정도이다. 이는 방사선에 피폭된 조직이나 기관에 손상이 일어난 결과이다. 아마도 금붕어의 장관의 수축활성 정도가 변하는 것도 방사선의 급성효과 중 하나이고, 이는 장의 세포가 손상을 입은 결과라 생각된다. 방사선의 생물학적 효과는 생물 종에 따라 다르게 나타나고 같은 생물종이라도 생리조건, 연령 등에 따라서 다르다. 척추동물에서는 고등동물일수록 방사선의 치사선량이 낮아지고, 무척추동물은 척추동물에 비해 방사선에 더 강하다. 일시에 4-5 Gy를 피폭하면 사람의 경우에 30일 이내에 50%가 사망하지만 금붕어는 일시에 23 Gy의 피폭에서 30일 이내에 50%가 사망한다. 사망의 원인은 선량에 따라 차이가 있지만 방사선에 의해 소화기관의 장애, 골수장애, 신경조직 장애 등이 있다. 이는 방사선에 의해 조직이 아주 심한 장애를 입었기 때문이다 (Cember, 1996). 이러한 척추동물과 어류와의 효과 차이는 금붕어가 분비하는 점액질과 표피에 존재하는 비늘 등으로 인해 방사선으로부터 척추동물보다 더 자신을 잘 보호한 결과라 생각된다. 따라서, ¹⁸F에서 방출된 양전자가 일단 수조 내의 물에 있는 여러 이온들과 결합하여 양전자 소멸을 통한 두 개의 γ -선을 낼 것이고, 금붕어 체내로 들어간 이 γ -선은 광전효과와 콤프턴효과 등으로 생성된 라디칼이나 분자 생성물이 수축활성에 관여하는 인자에 장애를 주어 Ach에 의한 실험군의 장관평활근의 수축활성이 감소되었을 것으

로 판단된다. 또한, Fig. 4에 나타낸 것처럼 조사 후 약 10일째 이후부터 점차적으로 수축활성 정도가 대조군 (C)과 비교하여 거의 유사한 정도로 나타나는 것으로 보아 체내 복구기전에 의해 회복되어진 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- Cember, H. 1996. Biological effects of radiation. In: Introduction to Health Physics. Robert Maxwell, M.C. ed. McGraw-Hill, New York, USA, 177-199.
- Demol, P., H.J. Ruoff and T.R. Weihrauch. 1989. Rational pharmacotherapy of gastrointestinal motility disorder. *Eur. J. Pediatr.*, 148, 489-495.
- EI-Sharkawy, T.Y., K.G. Morgan and H.H. Szurszewski. 1978. Intracellular electrical activity of canine and human gastric smooth muscle. *J. Physiol.*, 279, 291-307.
- Emerit, J. and J. Chaudiere. 1989. CRC Hand Book of Free Radical and Antioxidants in Biomedicine, Miquel J., A.T. Quintailha, H. Weber eds. Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1-177.
- Fridovich. 1986. Superoxide dismutase. In: Methods of Enzymatic Analysis. Bergmyer ed. Vol. 58. Academic-Verlag, Berlin, Germany, 61-97.
- Gudz, T.I., I.G. Pandelova and S.A. Novgorodov. 1994. Stimulation of respiration in rat thymocytes induced by ionizing radiation. *Radiat. Res.*, 138, 114-120.
- Henderson, B.W. and A.C. Miller. 1986. Effects of scavengers of reactive oxygen and radical species on cell survival following photodynamic treatment in vitro: comparison to ionizing radiation. *Radiat. Res.*, 108, 196-205.
- Jones, G.D.D. and P.O'Neill. 1990. The kinetics of radiation-induced strand breakage in polynucleotides in the presence of oxygen: a time-resolved light-scattering study. *Int. J. Radiat. Biol.*, 57, 1123-1139.
- Khan, M.Y. 1974. Radiation-induced changes in skeletal muscle: an electron microscopic study. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 33, 42-57.
- Kong, S. and A.J. Davison. 1981. The relative effectiveness of $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 , O_2^- , and reducing free radicals in causing damage to biomembranes: a study of radiation damage to erythrocyte ghosts using selective free radical scavengers. *BBA-Biomembranes*, 640, 313-325.
- Konings, A.W.T. 1984. The involvement of polyunsaturated acyl chains of membrane phospholipids in radiation induced cell death of mammalian cells. In: Oxygen Radicals in Chemistry and Biology. Walter de Gruyter & Co., Berlin, Germany, 593-602.
- Moore, P.B., H.E. Huxley and D.J. DeRosier. 1970. Three-dimensional reconstruction of F-actin, thin filaments and decorated thin filaments. *J. Mol. Biol.*, 50, 279-288.
- Morimoto, K. and W.F. Harrington. 1974. Evidence for structural changes in vertebrate thick filaments induced by calcium. *J. Mol. Biol.*, 88, 693-709.
- Ohba, M., Y. Sakamoto and T. Tomita. 1975. The slow wave in the circular muscle of the guinea-pig stomach. *J. Physiol.*, 53, 505-516.
- Pollard, T.D. and J.A. Cooper. 1986. Actin and actin-binding proteins: a critical evaluation of mechanisms and functions. *Ann. Rev. Biochem.*, 55, 987-1035.
- Prasad, K.N. 1982. Acute radiation syndromes. In: Radiation Biology. Pizzarello, D.J. and L.G. Clolmbetti, eds. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 205-235.
- Remy, J., M. Martin, J.L. Lefaix and F. Daburon. 1986. Radiation induced fibrosis in pig muscle: pathological and cellular observations. *J. Cancer*, 53, 232-233.
- Sonntag, C.V. and U. Hagen. 1981. Radiation induced strand breaks in DNA. *Adv. Radiat. Biol.*, 9, 109-142.
- Weber, A. and S. Winicur. 1961. The role of calcium in the superprecipitation of actomyosin. *J. Biol. Chem.*, 236, 3198-3202.
- Yatvin, M.B., J.J. Gipp, E.D. Werts, M. Tamba and G. Simone. 1984. Membrane aspects of radiation biology. In: Oxygen Radicals in Chemistry and Biology. Walter de Gruyter & Co., Berlin, Germany, 563-579.

2007년 11월 14일 접수

2008년 4월 1일 수리