

이온화 방사선 및 염화수은 처리에 따른 어류 간암세포의 생존능 평가

한 민 · 현경만 · 모하마드닐리¹ · 황인영² · 김진규*

한국원자력연구원 방사선과학연구소, ¹스페인 도네쉬방사선연구소,
²인제대학교 환경공학부

Synergistic Effects of Ionizing Radiation and Mercury Chloride on Cell Viability in Fish Hepatoma Cells

Min Han, Kyung Man Hyun, Mohammad Nili¹, In Young Hwang² and Jin Kyu Kim*

Korea Atomic Energy Research Institute, Advanced Radiation Technology Institute,
Jeongeup 580-185, Korea

¹Dawnesh Radiation Research Institute, Barcelona 08007, Spain

²Department of Environmental Science and Engineering, Inje University,
Gimhae 621-749, Korea

Abstract – All organisms are being exposed to harmful factors present in the environmental. The combined action of various factors is a distinguishing feature of modern life. An interaction between two chemicals is considered as synergistic when the effect produced is greater than the sum of the two single responses. The biological effects due to the combined action of ionizing radiation with the other factor are hard to estimate and predict in advance. In the current study, we investigated the synergistic effects between ionizing and HgCl₂ using fish hepatoma cells (PLHC-1 cells). The results showed a dramatic decrease of cell viability after simultaneous treatment of PLHC-1 cells with ionizing radiation and HgCl₂. Neither of the two had any cytotoxic effect when treated alone. The cytotoxicity of ionizing radiation was enhanced in the presence of HgCl₂. The synergistic effects were observed after exposure of the PLHC-1 cells to ionizing radiation combined with HgCl₂. The synergistic interaction was due to an increase of irreversibly damaged cells after the combined exposure. Analysis of the extent of synergistic interaction enables to make quantitative estimation of irreversibly damaged cells after the combined exposure. The present study suggests that PLHC-1 cells can serve as rapid screening tools for detecting the toxicity of harmful factors.

Key words : radiation, mercury chloride, fish hepatoma cells, synergistic interaction

서 론

모든 생물체는 생활환경에 존재하는 다양한 화학물질

과 물리적, 화학적, 사회적 요인의 영향을 받고 있으며, 특히 수서생물은 주위 환경으로부터 직접적인 영향을 받는다고 볼 수 있다. 수서생물이 노출 가능한 요인으로 는 수중으로 흘러들어온 각종 중금속, 농약, 인공 및 자연 방사선 등 화학물질과 수온, pH, 빛, 유속 등의 물리적 요인, 각종 요인들 간의 화학적 반응, 각 생물 간의

* Corresponding author: Jin Kyu Kim, Tel. 063-570-3130,
Fax. 063-570-3139, E-mail. jkkim@kaeri.re.kr

생태적 상호작용 등에 의해 영향을 받게 된다. 그러나 화학물질에 생물이 노출될 경우, 타 요인들에 비해 체내에 미치는 영향 즉, 손상의 정도가 크기 때문에 생물, 환경, 생태계 등 관련 분야에서는 더욱 활발한 연구가 진행되고 있다. 한편, 두 가지 이상의 요인들이 복합적으로 작용할 경우, 생물체에 유발되는 영향은 복잡하고 다양하여 평가나 사전 예측이 매우 어렵기 때문에 각 물질의 동시노출에 따른 생물체내의 상승, 가산, 길항작용 등 복합작용 규명의 필요성이 제기되고 있다. 다중 요인의 복합작용을 연구하기 위해서는 자극에 보다 민감하게 반응하는 생물을 이용하여 이들의 생체내 손상 정도를 평가 및 예측하는 연구가 선행되어야 함은 물론, 효과적인 생물체내의 검정 기술의 확립이 필요하다.

화학물질 중 하나인 중금속은 노출되는 생물종이 다양하고 농도에 대한 영향이 뚜렷하여 많은 연구가 진행되었으며, 중금속의 이용이 증대됨에 따라 이에 대한 안전성 연구는 생물학적 영향을 근거로 하여 범위가 점차 확대되고 있다. 중금속 중에서도 수은화합물은 각종 환경매체를 통해 생물에 직접 노출될 가능성이 있으며, 수은화합물 중에서도 염화수은(II)은 주로 신경계, 신장, 간 등에 손상을 유발하는 것으로 보고되었다(Emanuelli *et al.* 1996). 염화수은(II)에 의해 유발된 간독성에 대해서는 간세포를 이용하여 형태학적 변화를 관찰한 연구를 비롯하여 간독성과 미토콘드리아 손상의 연관성이 연구된 바 있다(Muller 1986; Nieminen *et al.* 1990; Sokol *et al.* 1993).

중금속과 더불어, 방사선의 이용도 점차 증가하게 되면서 방사선의 자극에 대한 생물의 반응을 연구하는 방사선생물학을 포함하여 방사선과 관련한 방사선물리학, 방사선화학 등 기초과학 분야의 발전을 위해 많은 연구가 진행되고 있다. 그러나 국내, 외 대부분의 실험은 이온화 방사선의 단독노출에 의한 영향 연구에 초점이 맞추어져 있어, 방사선과 타 화학물질의 동시노출에 따른 생물체내의 상승, 가산, 길항작용 등의 복합작용 규명 연구의 필요성이 제기되고 있다. 다양한 생물을 대상으로 하여 이온화 방사선과 타 화학물질 간의 복합작용을 연구한다면 더욱 효과적인 결과를 얻을 수 있다. 또한, 사람을 포함한 포유류가 중심이 된 연구에서 벗어나 실제 환경에서 노출 가능한 환경생물종의 연구를 통해 각 생물종의 비교는 물론, 생태계에 미치는 영향 예측이 가능하다.

국내·외 대부분의 연구는 세포 수준에서의 수은 또는 방사선의 단독 처리에 의한 영향을 관찰하는 데 초점이 맞춰져 있으며, 실제 복합작용 연구가 보고되었다 하더라도 사람세포에 제한적으로 수행되어 왔다. 복합작

용에 관한 연구사례로는 자궁경부암 세포를 대상으로 수은과 이온화 방사선을 동시 처리 후, DNA 손상 및 수복 연구가 보고된 바 있다(Woo *et al.* 2006). 따라서, 본 연구에서는 수환경 오염으로부터 직접 노출되는 생물인 어류의 세포를 대상으로 이온화 방사선과 수은에 동시에 노출되었을 경우, 그 손상을 생존율 변화를 통해 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 세포배양

본 연구에서 사용된 어류간암세포, PLHC-1 (*Poeciliopsis lucida* hepatocellular carcinoma) 세포주는 topminnow의 암컷 성체의 간암세포에서 분주한 것으로, 인제대학교 자연대학 환경독성학실의 황인영 교수 연구실에서 분양 받은 후, 배양하여 본 시험에 사용하였다. 30°C에서, 5% CO₂와 습도가 조절되는 배양기에 배양하며, 5% FBS (fetal bovine serum)이 포함된 Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM)의 배지를 사용하여 배양하였다. 배지는 2~3일마다 교환해주며, 계대배양은 3~5일에 한 번 1:4 비율로 하였다. 배양된 세포는 0.05% Trypsin EDTA 용액을 처리하여 분리하였으며, 만들어진 세포현탁액은 Hemocytometer으로 계수하여 세포수가 2×10^5 cells · mL⁻¹이 되도록 조절한 후, 시험을 수행하였다.

2. 방사선 및 염화수은(II) 처리

PLHC-1 세포를 96-well plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 수은 및 방사선 처리를 실시하였다. 실험은 수은 및 방사선 단독 처리군과 수은과 방사선 복합처리군으로 나누어 수행하였으며, 염화수은(II)처리 농도는 1~500 μM 사이에서 구배하여 24, 48시간 동안 처리하였다. 이온화 방사선은 한국원자력연구원의 ⁶⁰Co γ-ray를 이용하여 총선량이 500 Gy 이하가 되도록 조절하여 조사하였다. 본 연구에서는 방사선과 수은 복합처리군의 경우 수은 처리 후 방사선 조사 방법으로 처리하였으며, 각각의 처리 후, 단독처리군과 동일한 시간의 배양시간을 거친 후 생존율을 측정하였다.

3. 각 처리군의 세포 생존율 측정

세포의 생존율은 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay 방법을 이용하여 측정하였다. 이 방법은 생존 세포의 탈수소 효소작용을

이용하여 처리물질에 의해 세포가 사멸 또는 증식 억제되는 정도를 결정하는 실험법으로 다양한 세포주에 적용이 가능하고 많은 시료를 간단, 신속하고 객관성 높게 판독할 수 있어 세포독성 측정시 널리 사용되는 기법이다 (Mossmann 1983). 수은과 방사선 처리가 끝나면 배양액 100 μ L 제거 및 MTT 용액 10 μ L 첨가 후 4시간 동안 배양기에서 반응시킨다. 형성된 formazan crystal을 용해시킨 후, ELISA reader (Multiskan[®] EX, Forma Scientific, Inc.)를 사용하여 570 nm와 690 nm의 파장으로 흡광도를 측정하여 세포의 생존율을 측정하였다.

4. 통계학적 분석

대조군과 실험군과의 유의성 검정은 Student's *t*-test로 비교하였으며, *p*가 0.005 이하인 것만 유의한 것으로 하였다.

결 과

1. 방사선 단독 처리된 세포의 생존율

방사선이 세포의 생존에 미치는 영향을 알아보기 위하여 방사선에 노출시키고 24시간, 48시간의 배양시간을 거친 후 MTT assay를 실시하였다. 방사선 총선량 0~500 Gy의 범위에서 처리된 각 세포의 생존은 대조군 생존율을 100%로 환산하여 비교하였다. 그 결과, 노출 시간에 상관없이 방사선 총선량 증가에 따라 세포의 생존은 유의하게 감소하였다 (Fig. 1). 처리 선량 10~100 Gy의 경우 대조군과 비교하여 처리 후 24시간의 결과 값에서는 90% 이상의 생존율을 나타낸 반면, 48시간 후의 경우 73%로 측정되어 시간이 지나면서 방사선에 의한 영향이 세포의 생존 또는 성장을 저해하는 결과로 나타났다. 이와 더불어, 400 Gy 이상에서는 노출 후 배양시간과 무관하게 생존율이 30% 이하로 관찰되었다. 이때 측정된 농도-생존율 값을 이용하여 수식을 도출할 수 있었으며, 수식을 이용하여 처리 후 24시간과 48시간 LD₅₀ 값을 구한 결과, 각각 298.0, 255.5 Gy로 산출되었다.

2. 염화수은 (II) 단독 처리된 세포의 생존율

PLHC-1 세포주를 염화수은 (II) 1~500 μ M 농도 범위에서 24시간 및 48시간 동안 처리하여 생존율을 관찰하였다. 그 결과, 노출 시간에 상관없이 수은 농도가 증가함에 따라 세포의 생존은 유의하게 감소하였으며, 100 μ M까지는 대조군 대비 90% 이상의 생존율을 나타내었

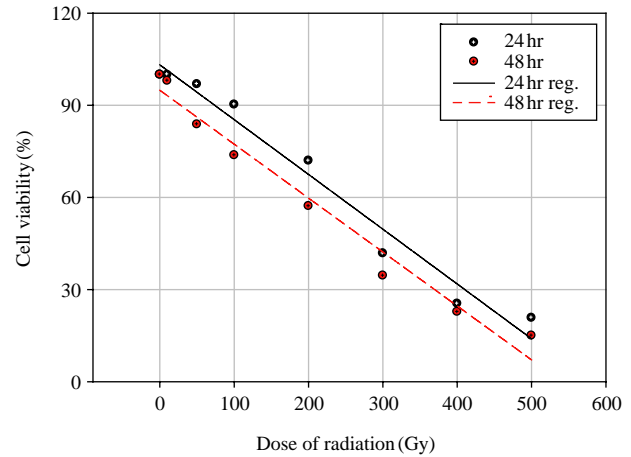


Fig. 1. Effect of radiation on viability of PLHC-1 cells *in vitro*. Cell viability was assessed by MTT assays after 24, 48 hr (n=3). Data are presented as the percentage of control viability. Cell viability was greatly reduced in a dose- and time-dependent manner after radiation exposure. All the points showed a statistically significant difference from the control group according to Student's *t*-test ($p < 0.005$).

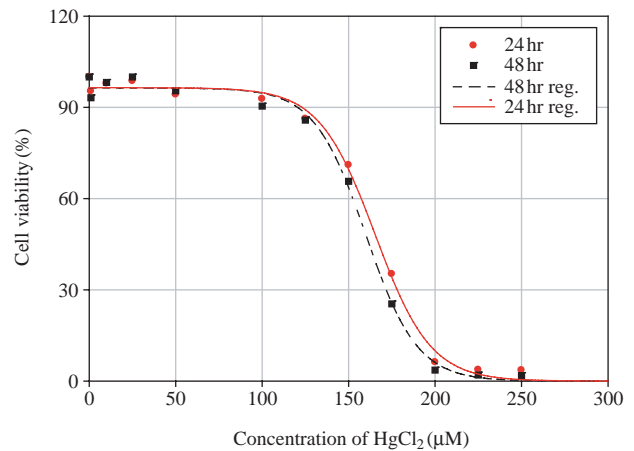


Fig. 2. Effect of HgCl₂ on viability of PLHC-1 cells *in vitro*. Cell viability was assessed by MTT assays after 24, 48 hr (n=3). Data are presented as the percentage of control viability. Cell viability was greatly reduced in a dose- and time-dependent manner by HgCl₂ exposure. All the points showed a statistically significant difference from the control group according to Student's *t*-test ($p < 0.005$).

다 (Fig. 2). 이후, 200 μ M 이상의 농도에서는 농도 증가에 따라 생존율이 급격하게 감소되어 10% 이하의 생존율이 관찰되었다. 이때 측정된 농도-생존율 값을 이용하여 수식을 도출할 수 있었으며, 수식을 이용하여 24시간과 48시간 노출의 LD₅₀을 구한 결과, 각각 164.12, 158.3 μ M로 산출되었다.

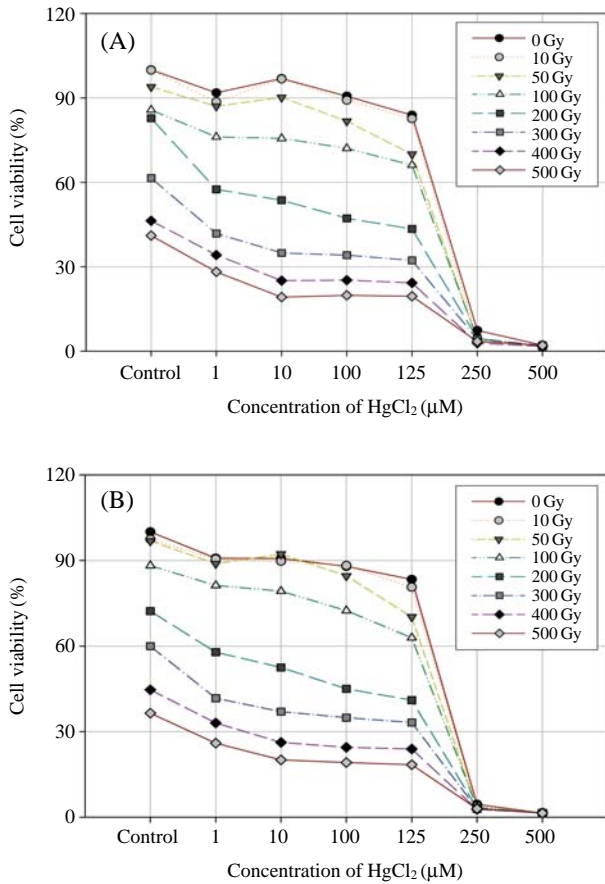


Fig. 3. The *in vitro* cytotoxicity assays of the irradiation and HgCl₂ treatment on PLHC-1 cells. Cytotoxicity was measured by MTT assay after 24 hr (A) and 48 hr (B) exposure, respectively (n=3). Cell viability was greatly reduced in a dose-dependent manner by radiation and HgCl₂ exposure. All the points showed a statistically significant difference from the control group according to Student's *t*-test ($p < 0.005$).

3. 방사선과 염화수은(II)의 복합처리에 의한 세포의 생존율 변화

방사선과 염화수은(II)에 복합처리된 세포의 생존율 측정에서는 두 가지 요인의 자극 강도가 강해짐에 따라 생존율이 현저하게 감소됨을 알 수 있었다 (Fig. 3). 수은 처리 후 방사선을 처리한 세포의 경우, 방사선 단독처리군과 비교하여 세포 생존율이 낮게 측정되었으며, 이러한 결과는 각 물질의 저농도에서 더욱 뚜렷하게 관찰되었다. 한편, 방사선과 수은의 복합처리지 측정된 영향 수치는 각 물질 단독처리 영향의 합보다 크게 나타났다. 이는 방사선과 수은의 복합처리지 관찰된 세포의 생존율 감소에 대하여 단순가산이 아닌 상승효과가 나타났음을 의미하는 것으로 유추해 볼 수 있었다.

고 찰

방사선 자극에 대한 생물 반응 연구의 범위가 점차 넓어지고 있지만, 방사선의 단독처리에 의한 영향 연구를 중심으로 수행되어 왔기 때문에 타 물질 간의 복합처리에 따른 생물체내의 상승, 가산, 길항작용 등 복합작용 규명과 관련한 연구가 필요한 분야라고 할 수 있다. 또한, 이온화 방사선과 화학물질 등의 단독노출에 대한 연구라 하더라도 주로 사람을 포함한 포유류를 중심으로 이루어져 왔으며, 실제 환경에서 직접 노출되는 생물종에 대해서는 아직 연구가 부족한 실정으로 환경생물종의 연구를 통하여 포유류의 연구 결과와 비교가 가능하다. 환경생물종 중에서도 어류는 다양한 분야에서 널리 이용되며, 그중에서도 어류세포는 신속하고 실험 용이한 장점으로 경제적인 정보를 제공할 수 있다 (Kolpoth *et al.* 1999; Kammann *et al.* 2000). 특히, 본 연구에서 사용된 PLHC-1 세포주는 어류간암세포로서 중금속과 같은 스트레스 요인의 *in vitro* 스크리닝 평가시, 관련 단백질과 세포독성평가 기법을 이용하여 널리 이용되는 세포주 중 하나이다 (Ryan *et al.* 1994). 그 외에도 유기화합물에 대한 어류 세포를 이용한 생태평가시, 대상생물로서 많은 연구가 진행되었다 (Bruschweiler *et al.* 1995; Fent 1996). 또한, PLHC-1 세포주 등 어류 세포를 이용한 독성평가 기법은 단시간의 결과 도출과 경제성이 높기 때문에 생태독성평가시 예비시험 기법으로서의 활용성이 높다고 알려져 있다 (Kolpoth *et al.* 1999; Kammann *et al.* 2000).

따라서, 본 연구에서는 PLHC-1 세포주를 이용하여 방사선 자극에 대한 평가의 적합성 유무 확인과 더불어, 이온화 방사선과 수은에 동시 처리시 나타나는 손상에 대하여 생존율 변화를 통해 관찰하였다. 방사선 및 수은 단독처리군에서는 농도가 증가함에 따라 세포의 생존은 유의하게 감소하였다. 이때, 측정된 농도-생존율 수식에 의해 처리 24, 48시간의 LD₅₀는 각각 298.0, 255.5 Gy로 산출되었다. 이와 더불어, 방사선 선량 300 Gy까지는 처리 후 24시간보다 48시간의 생존율이 10~15% 가량 낮게 나타나 시간이 지나면서 방사선에 의한 영향이 세포의 생존 또는 성장 저해 결과로 나타났음을 확인할 수 있었다. 어류세포의 경우, 방사선 자극에 대한 방어 효과 반응에서는 포유류와 비교하여 다른 경향을 보였지만 (Ryan *et al.* 2008), 실제 자극 반응 실험에서는 처리 선량 및 시간 등과 관련하여 포유류의 연구 범위 내 적용 가능성이 보고된 바 있다 (Kurihara *et al.* 1992). 이때 방사선 처리에 의한 세포 자극은 산화적 손상에 기인하는 것으로 세포내 DNA 손상으로 이어지게 되며 (Şener *et*

al. 2003), DNA 사슬절단, 염기 변환 등을 일으켜 돌연변이 또는 발암을 유발할 수도 있으며, 세포막을 구성하는 지질과의 반응을 통해 지질과산화 유도가 보고되었다 (Ames 1983; Hutchinson 1985). 실제로 이온화 방사선 노출과 관련한 연구에서는 산화적 손상 측정을 위한 항산화효소의 활성, DNA 손상 정도 측정을 이용하여 영향을 측정하고 있으며, 본 연구의 생존 결과를 기초자료로 하여 더욱 다양한 생체지표의 활용이 필요하다고 판단되었다. 한편, 염화수은(II)에 단독처리된 세포의 경우 방사선과 마찬가지로 세포의 생존이 유의하게 감소하였다. 24, 48시간 처리의 LD₅₀ 값은 각각 164.1, 158.3 μM로 사람간암세포의 LD₅₀ (24 hr) 값이 약 90~100 μM인 것 (Lee *et al.* 2009)과 비교하여 다소 둔하다고 볼 수 있지만, 본 연구 결과를 통해 어류세포를 이용한 생태영향평가 및 사람세포와의 비교 가능성을 확인할 수 있었다. 간암세포 외에도 사람 신경세포와 기관지상피세포를 대상으로 생존율을 측정된 결과, LD₅₀ (24 hr) 값이 각각 58 μM (Issa *et al.* 2003), 29.5~36.8 μM (Park and Park 2007)로 간암세포와는 또 다른 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 생물의 각 세포에 따라 민감도가 달리 나타날 수 있으며, 이때 나타나는 민감도에 따라 실제 염화수은(II)에 노출될 경우 생체 내 손상이 높은 표적장기를 추측할 수 있다. 이와 함께, 사람세포와 마찬가지로 어류세포에 대한 물질의 영향을 보다 정확하게 유추하기 위해서는 더욱 다양한 표적장기 세포를 활용해야 할 것으로 사료된다. 방사선과 염화수은(II)에 복합처리된 세포의 생존율 측정에서는 두 가지 요인의 자극 강도가 강해짐에 따라 생존율이 현저하게 감소되었으며, 각 요인의 상호작용에 의한 영향이 이론적인 단순가산 값보다 높게 나타나 상승작용으로 확인되었다. 본 연구 결과 외 방사선과 타 화학물질 간의 상승작용은 사람 림프구 및 자궁경부암 세포를 대상으로 수은과 이온화 방사선의 동시처리시 나타나는 DNA 손상 및 수복기작에 대하여 연구된 바 있다 (Panek *et al.* 2001; Woo *et al.* 2006). 수은 이외 물질 중 살충제와 방사선을 사람의 림프구 세포에 동시처리시켜 상승작용을 관찰하는 등 복합작용 연구가 시도되었으며 (Kim 2001), 이는 제한적인 결과만을 제시해준 만큼 더욱 넓은 범위의 연구가 필요하다고 볼 수 있다.

본 연구결과들을 통해 방사선 자극에 대하여 PLHC-1 세포주를 이용한 평가의 가능성을 시사해 줌은 물론, 방사선과 염화수은(II)에 복합처리된 세포의 생존 변화로서 각 물질의 상승작용을 확인할 수 있었다. 이와 더불어, 이온화 방사선과 타 물질 간의 복합작용 연구시 세포의 생존뿐만 아니라 세포내 효소활성 변화, DNA 손상 정도 측정 등 다양한 생체지표를 이용하여 연구를 수행

한다면 방사선 생태영향평가의 기초이론 정립을 위한 자료로서 활용될 수 있다고 판단된다.

결 론

방사선 자극 평가시 PLHC-1 세포의 적합성 확인과 함께, 방사선과 염화수은(II)의 단독처리 및 복합처리시 나타나는 손상에 대하여 관찰하고자 본 연구를 수행하였다. 방사선과 수은의 단독처리군의 경우, 생존율에 따른 LD₅₀ (24 hr) 값은 각각 298.03 Gy, 164.12 μM로 산출되었다. 방사선과 수은의 복합처리에 의한 실험 결과에서는 두 가지 요인의 자극 강도가 강해짐에 따라 생존율이 현저하게 감소되었으며, 각 요인의 상호작용에 의한 영향이 이론적인 단순가산 값보다 높게 나타나 상승작용으로 확인되었다. 이러한 결과는 기존 사람세포를 대상으로 한 연구와 유사한 경향을 나타낸 것으로서 생존율을 비롯하여 타 생체지표를 이용한 결과와 함께 병행하여 더욱 정확한 결과를 도출할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 교육과학기술부에서 시행하는 기관고유사업의 지원으로 수행되었으며, 한국원자력연구원과 스페인 도네쉬방사선연구소 간 국제협력을 통한 연구결과를 일부 포함하고 있습니다.

참 고 문 헌

- Ames BN. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens-oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 221:1256-1264.
- Bruschweiler BJ, FE Würigler and K Fent. 1995. Cytotoxicity *in vitro* of organotin compounds to fish hepatoma cells PLHC-1 (*Poecilopsis lucida*). *Aquat. Toxicol.* 32:143-160.
- Emanelli T, JB Racha, ME Pereira, LO Porciuncula, VM Morsch, AF Martins and DO Souza. 1996. Effect of mercuric chloride intoxication and dimercaprol treatment on delta-aminolevulinatase dehydratase from brain, liver and kidney of adult mice. *Pharmacol. Toxicol.* 79:136-143.
- Fent K. 1996. Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* 26:1-117.
- Hutchinson F. 1985. Chemical changes induced in DNA by ionizing radiation. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 32:

- 115-154.
- Issa Y, DC Watts, AJ Duxbury, PA Brunton, MB Watson and CM Waters. 2003. Mercuric chloride: toxicity and apoptosis in a human oligodendroglial cell line MO3.13. *Biomaterials* 24:981-987.
- Kammann U, JC Riqgers, N Theobald and H Steinhart. 2000. Genotoxic potential of marine sediments from the North Sea. *Mutation Research* 467:161-168.
- Kim JK. 2001. Synergistic interaction of radiation with pesticide on DNA damage in human lymphocytes as biological information for prevention of environmental disaster. *Korean J. Environ. Biol.* 19:19-24.
- Kolpoth M, B Rusche and M Nusse. 1999. Flow cytometric measurement of micronuclei induced in a permanent fish cell line as a possible screening test for the genotoxicity of industrial waste waters. *Mutagenesis* 14:397-402.
- Kurihara Y, M Rienjkarn and H Etoh. 1992. Cytogenetic adaptive response of cultured fish cells to low doses of X-rays. *Japan J. Radiat. Res.* 33:267-274.
- Lee SH, MJ Cha, CK Kang, ET Shon, HK Lee, A Munawir, JS Kim and EK Kim. 2009. Mutual synergistic toxicity between environmental toxicants: A study of mercury chloride and 4-ponylphenol. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 27:90-95.
- Mossmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.* 65:55-63.
- Muller L. 1986. Consequences of cadmium toxicity in rat hepatocytes: mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation. *Toxicology* 40:285.
- Nieminen AL, GJ Gores, TL Dawson, B Herman and JJ Lemasters. 1990. Toxic injury from mercuric chloride in rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 265:2399.
- Panek A, JK Kim and A Cebulska-Wasilewska. 2001. *In Vitro* studies of repair efficiency of DNA damage induced by X-rays in lymphocytes exposed to mercury. 12nd Symposium of Polish Radiation Research Society, Sept. 10~12, 2001, Krakow, Poland.
- Park EJ and KS Park. 2007. Induction of reactive oxygen species and apoptosis in BEAS-2B cells by mercuric chloride. *Toxicology in Vitro* 21:789-794.
- Ryan JA and LE Hightower. 1994. Evaluation of heavy-metal ion toxicity in fish cells using a combined stress protein and cytotoxicity assay. *Environ. Tox. Chem.* 13:1231-1240.
- Ryan LA, CB Seymour, A O'Neill-Mehlenbacher and CE Mothersill. 2008. Radiation-induced adaptive response in fish cell lines. *J. Environ. Radioactiv.* 99:739-747.
- Şener G, N Jahovic, OB Tosun, M Atasoy and BÇ Yeen. 2003. Melatonin ameliorates ionizing radiation-induced oxidative organ damage in rat. *Life Sci.* 74:563-572.
- Sokol RJ, MW Devereaux, K O'Brien, RA Khandwala and JP Loger. 1993. Abnormal hepatic mitochondrial respiration and cytochrome c oxidase activity in rats with long-term copper overload. *Gastroenterology* 105:178.
- Woo HJ, JH Kim, A Cebulska-Wasilewska and JK Kim. 2006. Evaluation of DNA damage by mercury chloride (II) and ionizing radiation in HeLa cells. *Korean J. Environ. Biol.* 24:46-52.

Manuscript Received: February 26, 2009
 Revision Accepted: March 12, 2009
 Responsible Editor: Wonchoel Lee

페이지 확인요망!!!