

마우스에서의 高線量 放射線에 의한 慢性障害

金成昊 · 金英珠 · 吳永蘭 · 尹鐸求

韓國에너지研究所 原子力病院 癌病理學研究室

(1987. 7. 24 接受)

Late Biological Effect of High-dose Radiation in the Mice

Sung-ho Kim, Young-ju Kim, Yeong-ran Oh and Taik-koo Yun

Laboratory of Cancer Pathology, Korea Cancer Center Hospital, Korea Advanced Energy Research Institute

(Received July 24th, 1987)

Abstract: Radiation-induced life shortening, carcinogenesis and other pathological changes were investigated in NIH(GP) mice after ^{60}Co - γ ray irradiation(100~700rads).

The results were summarized as follows:

1. There were little difference in body weights, hematological examination and other clinical findings between normal and irradiated groups.
2. Mean survival time of the mice after irradiation were decreased dose-dependently.
3. Main gross findings of the mice irradiated were appeared as enlargement of spleen, thymus and lymph nodes, tumorous nodules of lung and cyst of ovary. Especially, enlargement of thymus was promineort in high dose group.
4. Microscopically, there were various findings including myeloid leukemia, thymic lymphoma, lung adenoma, adenosquamous cell carcinoma of pancreas, pneumonia and other pathological changes. Especially thymic lymphoma was highly frequent in the 700 rads group.

서 론

방사선에 의한 만성장애 효과에는 피폭된 개체에서만 발생하고 다음 세대에 전해지지 않는 생체적 영향과 다음 세대에 전하여지는 유전적 영향으로 구분된다(Committee report, 1980; Frankel, 1976; Casarett, 1968). 유전적 영향으로는 생식세포에 생기는 변화로 유전적 돌연변이와 염색체 이상을 들 수 있으며 생체적 장애로는 암의 발생(Pochin, 1976; Upton 등, 1970; Casarett, 1968), 비특이적 수명단축(Ullich와 Storer, 1978; Sacher 등, 1978; Upton, 1977; Casarett, 1968; Upton 등, 1967), 체내 호르몬량의 변화(Donlon 등, 1985; Sinzinger 등, 1982; Eisen과 Walker, 1976) 및 면역기능의 장애(Jo 등, 1986) 등을 들 수 있다. 특히 백혈병을 위시한 종양이 비교적 쉽게 유발되며 잠

복기가 짧기 때문에 저선량 방사선에 의해서도 백혈병 발생이 가장 현저한 것으로 알려져 있다(Pochin, 1976; Upton 등, 1970; Casarett, 1968). 이외 유암, 폐선종 등의 발생이 보고 되고 있다(Upton 등, 1970).

방사선에 의한 만성적인 생체장애증상은 일반적으로 용량의존성이나 방사선의 선종, 방사선의 량, 선질, 조사선량율, 동물의 종 및 계통, 방사선 조사시의 연령 또는 장애 관찰시의 연령 등에 따라 그 발현정도가 크게 다르다(Ullich와 Storer, 1978). 따라서 다양한 실험조건에서의 실험들이 수행되어야 할 것이다.

그러나 지금까지의 대부분 연구가 특정한 범위의 장애만을 단편적으로 관찰하였고 또한 대부분의 경우 저선량 방사선에 의한 연구가 수행되었다. 한편 원자력의 다양한 이용분야의 증가에 따라 발생할 수도 있는 우발적 사고에 대비하기 위하여서도 고선량 방사선에

의한 각종 생체 장해의 종합적 관찰이 요구된다.

본 연구에서는 고선량 방사선 조사 후 평균수명, 혈액학적 변화, 백혈병을 비롯한 각종 종양의 발생 등을 관찰 하였기에 보고 하는 바이다.

재료 및 방법

실험동물 : 미국 국립보건원에서 분양받아 본 연구실에서 사육한 비근교계 NIH(GP) 마우스를 사용하였으며 NIH-7-open formula에 의해 제조된 교형사료를 급여하였다. 동물은 항온 항습이 유지되는 동물실에서 사육하였고 음수 및 사료는 자유로이 섭취시켰다.

방사선조사 : 생후 10주령의 NIH(GP) 자성 마우스를 사용하여 실험군 당 100마리로 하였으며 정상 대조군, 100rads, 200rads, 400rads, 600rads 및 700rads 조사군으로 나누었다. 방사선조사군은 $^{60}\text{Co-}\gamma$ ray(Theratron-780)를 280rads/min의 선량율로 1회 전신조사하였다.

병리학적 검사 : 각 실험동물은 폐사 직전에 안부체혈하고 부검하여 육안적 소견을 관찰한 후 18가지 각종 장기의 중량을 측정하였다. 척추는 탈회한 후 각종 채취된 장기와 같이 10% 중성 포르말린 용액에 고정 후 파라핀 절편을 만들고 hematoxylin-eosin으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 한편 채취된 혈액은 적혈구, 백혈구, 혈색소치를 측정하였다. 각 동물의 체중은 4주 간격으로 계측하였고 평균 생존일을 파악하였다.

결 과

체중 및 장기 중량의 변화 : 각 실험군의 체중은 대조군과 같이 정상적으로 증가하였다. 한편, 각종 장기의 중량은 흉선의 경우 700rads 조사시 대조군에 비하여 약 10배 증가하였으며 간장 및 비장은 대조군에 비하여 다소 증가하나 조사량에 따른 변화는 일정하지 않았다(Table 1).

수명단축 현상 : 각 실험군의 평균생존일은 Table 2와 같다. 대조군에 비하여 100rads 조사군에서는 중등도의 유의성을 나타냈고($p < 0.05$), 200rads 이상의 용량에서는 높은 유의성이 있었으며($p < 0.01$) 각 선량간의 비교에서도 400rads와 600rads를 제외한 각 군간에 유의성 있는 감소를 보여($p < 0.05$) 조사된 선량에 따른 선량-효과 관계가 있음을 알 수 있었다.

혈액학적 소견 : 적혈구와 혈색소치는 각 실험군간에 유의성 있는 차이는 없었으며 정상치를 벗어나지 않았으나 개체별로 빈혈의 소견을 보이는 경우가 소수 있었다. 백혈구는 평균치에서 대조군에 비해 조사군이 증가하나 백혈병 발생에 따른 개체간의 백혈구의 차이가 크게 나타났다(Table 3).

육안적 소견 : 실험기간 중 견갑부의 결절형성, 탈모, 꼬리기형, 복부팽만 등이 관찰되었으나 선량에 따른 유의성 있는 차이는 없었다. 부검소견으로는 흉선의 종대가 선량에 비례하여 증가되었으며 비장의 종대는 대조군에 비하여 다소 증가하나 선량에 따른 유의한

Table 1. Organ Weights of the Mice Irradiated with ^{60}Co

Dose of ^{60}Co	No. of mice	No. of Ex. mice	Lung	Heart	Salivary gland	Liver	Pancreas	Spleen	Thymus	Brain	Kidney		Ovary	
											right	left	right	left
Normal control	93	78	9.8	5.0	4.7	45.7	6.7	6.0	1.0	13.9	6.8	6.8	1.1	0.9
			\pm 6.9	\pm 1.0	\pm 1.2	\pm 7.7	\pm 1.5	\pm 4.5	\pm 2.2	\pm 2.9	\pm 1.7	\pm 1.3	\pm 6.8	\pm 2.5
100rad	98	83	9.4	5.1	4.8	53.8	7.0	7.7	2.5	14.5	7.4	7.3	0.8	2.0
			\pm 6.0	\pm 0.9	\pm 1.4	\pm 25.7	\pm 2.4	\pm 8.4	\pm 8.5	\pm 3.4	\pm 1.2	\pm 1.4	\pm 1.6	\pm 7.8
200rad	99	77	11.0	4.9	5.1	60.1	5.9	10.1	1.5	15.5	7.6	7.4	0.6	1.6
			\pm 7.0	\pm 1.0	\pm 2.2	\pm 38.8	\pm 2.0	\pm 16.2	\pm 4.4	\pm 3.8	\pm 1.9	\pm 1.8	\pm 1.3	\pm 6.7
400rad	100	69	9.0	4.8	5.2	54.2	5.9	3.4	4.8	14.9	7.6	7.4	0.9	0.3
			\pm 5.5	\pm 1.1	\pm 1.7	\pm 21.9	\pm 1.6	\pm 9.7	\pm 11.4	\pm 2.9	\pm 3.2	\pm 1.7	\pm 3.5	\pm 0.8
600rad	100	69	10.0	4.8	4.4	53.7	4.8	8.0	3.7	15.7	8.0	7.5	1.0	1.6
			\pm 6.2	\pm 1.3	\pm 1.5	\pm 18.5	\pm 1.6	\pm 7.9	\pm 8.8	\pm 3.4	\pm 2.7	\pm 2.5	\pm 6.6	\pm 8.6
700rad	96	76	9.7	4.5	4.0	52.9	4.4	8.0	10.7	16.0	7.5	7.2	0.1	0.2
			\pm 5.3	\pm 1.2	\pm 1.4	\pm 28.6	\pm 1.4	\pm 7.7	\pm 13.6	\pm 3.2	\pm 1.9	\pm 1.8	\pm 0.1	\pm 0.2

Table 2. Mean Survival Time of the Mice after Irradiation of ⁶⁰Co

Dose rate	Dose	No. of mice	No. of Ex. mice	Mean age at death(days±S. D.)
45rads/min.	Normal	93	91	629.7±148.0
	Control			
	100 rad	98	93	568.3±176.2
	200 rad	99	96	495.7±180.5
	400 rad	100	97	432.9±148.1
	600 rad	100	98	402.0±162.6
	700 rad	96	91	340.7±128.9

Table 3. Hematological Findings of the Mice Irradiated with ⁶⁰Co

Dose of ⁶⁰ Co	No. of mice	No. of Ex. mice	W. B. C.	R. B. C.	Hb
			×10 ⁹ /L	×10 ¹² /L	g/dl
Normal control	93	75	6.6±9.1	8.5±1.8	14.6±2.5
100 rad	98	79	10.7±21.9	8.9±2.1	13.9±2.2
200 rad	99	69	11.2±23.6	8.7±2.5	13.6±2.9
400 rad	100	64	12.7±13.8	8.3±2.8	13.0±3.1
600 rad	100	64	9.7±13.1	8.2±2.5	13.4±3.2
700 rad	96	60	11.6±15.4	8.5±2.6	14.1±2.4

Table 4. Gross Findings of the Mice Irradiated with ⁶⁰Co

Dose of ⁶⁰ Co	No. of mice	No. of necropsied mice	Tumorous nodules in the lungs		No. of cases with spleno-megaly(%)	No. of cases with megalo-thymus(%)	No. of cases with hepat-omegaly(%)	Ovary cyst		
			%	mean No.				left (%)	right (%)	left right (%)
Normal	93	79	50.6	1.7	12 (15.2)	2 (2.5)	0 (0)	25 (31.6)	1 (1.3)	14 (17.7)
100 rad	98	83	49.4	1.8	15 (18.1)	1 (1.2)	6 (7.2)	26 (31.3)	4 (4.8)	8 (9.6)
200 rad	99	78	38.5	2.0	13 (16.7)	2 (2.6)	7 (9.0)	24 (30.8)	2 (2.6)	7 (9.0)
400 rad	100	78	38.5	2.1	17 (21.8)	12 (15.4)	4 (5.1)	15 (19.2)	2 (2.6)	3 (3.8)
600 rad	100	70	34.3	2.5	15 (21.4)	9 (12.9)	4 (5.7)	17 (24.3)	2 (2.9)	7 (10)
700 rad	96	77	20.8	2.4	15 (19.3)	32 (41.6)	2 (2.6)	4 (5.2)	0 (0)	2 (2.6)

차이는 없었다. 폐장의 선종양결절은 조사선량증가에 따라 다소 감소하였으나 발생개체당 결절의 평균수는 증가하였다. 기타 난소낭종, 폐장, 장장 등에 병변이 관찰되었으며 특히 난소낭종의 경우 우측에 비해 좌측 난소의 발생이 현저하였다(Table 4).

현미경적 소견 : 각 실험군의 병리조직학적 소견은

Table 5에서 보는 바와 같다. 조혈기 및 임파장기의 종양 발생율은 대조군에 비하여 조사군에서 선량에 따라 증가되는 경향을 나타냈으며 특히 고선량군에서 흉선성 임파종이 다수 관찰되었고 폐장의 선종발생은 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 5). 췌장(Fig. 6), 간장, 난소의 종양이 관찰되었으며 염증소견과 난소의

Table 5. Microscopical Findings of the Mice Irradiated with ⁶⁰Co

Dose of ⁶⁰ Co	No. of mice	No. of mice	Neoplasm		Other findings			
			No. of mice with neoplasm	(%)	No. of mice with lesion	(%)	(%)	
Normal Control	93	23	Hematopoietic or lymphoid tissue	3	(13.0)	Pneumonia	6	(26.0)
						Liver Necrosis	2	(8.6)
			Lung adenoma	8	(34.8)	Focal hepatitis	1	(4.3)
100 rad	98	41	Ovary	1	(4.3)			
			Hematopoietic or lymphoid tissue	9	(22.0)	Pneumonia	6	(14.6)
						Nephritis	2	(4.9)
			Lung adenoma	5	(12.2)	Enteritis	2	(4.9)
200 rad	99	65	Liver	1	(2.4)			
			Hematopoietic or lymphoid tissue	14	(21.5)	Pneumonia	10	(15.3)
						Myositis	1	(1.5)
			Lung adenoma	13	(20)	Pancreatitis	2	(3.1)
			Pancreas	1	(1.5)	Enteritis	2	(3.1)
						Spleen hemosiderosis	1	(1.5)
						Hepatitis	1	(1.5)
400 rad	100	66	Hematopoietic or lymphoid tissue	19	(23.8)	Pneumonia	11	(16.7)
						Hepatitis	2	(3.0)
			Lung adenoma	13	(19.7)	Liver fatty change	1	(1.5)
			Pancreas	1	(1.5)	Liver amyloidosis	1	(1.5)
			Ovary	3	(4.5)	Spleen amyloidosis	1	(1.5)
			Others	1	(1.5)	Enteritis	1	(1.5)
600 rad	100	62	Hematopoietic or lymphoid tissue	17	(27.4)	Pneumonia	11	(17.7)
						Hepatitis	3	(4.8)
			Lung adenoma	7	(11.3)	Nephritis	1	(1.6)
			Ovary	4	(6.5)	Enteritis	2	(3.2)
			Liver	1	(1.6)	Spleen hemosiderosis	1	(1.6)
						Ovary calcification	2	(3.2)
700 rad	96	77	Hematopoietic or lymphoid tissue	29	(37.6)	Pneumonia	12	(15.6)
						Hepatitis	5	(6.5)
			Lung adenoma	8	(10.4)	Nephritis	2	(2.6)
			Ovary	1	(1.3)	Pancreas necrosis	2	(2.6)
						Enteritis	1	(1.3)
						Spleen amyloidosis	2	(2.6)

석회화 및 비장, 췌장의 괴사가 소수 관찰되었다. 임파종의 경우 multicentric form 이 다수 발생하였다 (Figs. 1~4).

고 찰

방사선에 의한 장해중 발암현상으로는 백혈병이 대표적이다(Pochin, 1976; Upton 등, 1970; Casarett,

1968). 사람에서는 골수성 백혈병이 전체 발생수의 60% 정도를 차지하는 대표적 종양으로 알려져 있으며 (Committee report, 1980), 마우스에 대한 실험에서는 골수성 백혈병 및 흉선성 임파종이 다수 발생되나 일반환경에서는 골수성 백혈병의 발생 빈도가 높으며 제한된 환경에서는 흉선성 임파종이 많이 발생한다 (Kasuga 등, 1978; Upton 등, 1969).

본 연구에서 NIH(GP)마우스에서도 백혈병 발생이 가장 현저하였으며 흉선성 임파종의 경우 선량증가에 따라 계속 발생률도 증가하였으나 골수성 백혈병의 경우 400rads 군에서 최대 발생수를 보였으며 더 높은 선량에서는 감소하였다. 이는 Major 등(1978)이 CBA 마우스에 대한 실험결과와 비슷한 경향이였다. 폐선종의 발생은 대조군에 비하여 방사선 조사군에서 감소하나 이는 방사선 조사 마우스의 수명 단축현상으로 인한 결과인 것으로 해석되며 발생개체당 평균 폐선종 결절수가 증가함으로 방사선에 의한 폐선종 유발효과도 인정되었다.

수명 단축현상은 1회 전신조사시 선량에 비례하여 급격하게 수명이 단축된다고 하였으며 (Ullich와 Storer, 1978; Upton, 1977; Casarett, 1968; Upton 등, 1967) 고선량 1회 조사와 저선량 분할조사에서 총선량을 동일하게 하였을 경우 수명 단축현상은 단일 고선량조사에서 크게 나타난다고 알려져 있다 (Casarett, 1968). 따라서 본 연구에서는 고선량 1회 조사 방법으로 실시하였으며 선량에 비례한 효과를 관찰할 수 있었다.

이상의 결과를 통하여 방사선에 의한 생체의 만성장애는 선량 의존성 수명 단축현상과 흉선성 임파종 및

골수성 백혈병을 비롯한 각종 종양의 발생과 기타 각종 장기의 변성 및 염증, 괴사 등이였다. 특히 흉선성 임파종의 발생이 방사선량에 비례하여 증가함은 Upton 등(1970)과 Kasuga 등(1978)이 기술한 내용과 일치함을 알 수 있었다.

결 론

NIH(GP)마우스 600마리를 사용하여 대조군, 100 rads, 200 rads, 400 rads, 600 rads 및 700 rads의 $^{60}\text{Co}-\gamma$ ray 1회 전신 조사군으로 나누어 평균수명, 혈액학적 변화 및 종양발생을 비롯한 각종 장기의 병리학적 검사를 수행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 주기별 체중변화는 실험군간에 차이가 없었으며 각종 장기의 중량은 간장 및 비장은 대조군에 비하여 조사군에서 다소 증가하였고 특히 흉선의 중량은 선량에 비례하여 크게 증가하였다.

2. 마우스의 수명은 평균생존일이 선량에 따라 유의성 있게 감소하여 방사선량에 따른 선량-효과 관계를 나타내었다.

3. 백혈구수, 적혈구수 및 혈색소치는 실험군간에 유의성 있는 차이는 없었으나 백혈병 발생에 따른 개체간의 차이가 심하게 나타났다.

4. 육안적 소견으로는 비장, 흉선, 임파절 등의 종대 폐장의 선종양 결절 및 염증, 난소 낭종 등이 관찰되었다. 현미경 소견으로는 임파장기, 조혈장기의 종양, 폐선종, 및 췌장의 adenosquamous cell carcinoma 등이 관찰되었으며 특히 흉선성 임파종이 고선량조사에서 다수 나타났다.

Legends for Figures

Fig. 1. The spleen of 400 rads of $^{60}\text{Co}-\gamma$ ray irradiated mice. The spleen of the mouse irradiated with 400 rads ^{60}Co showing diffuse proliferation of lymphoid cells. Experimental period, 72 weeks. Hematoxylin and Eosin(H-E) stain. $\times 20$.

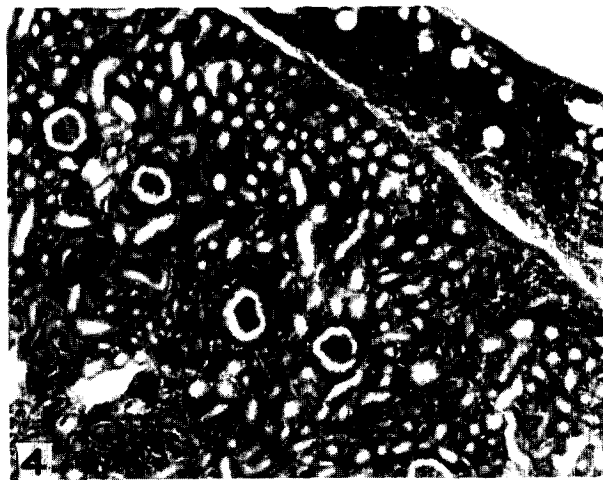
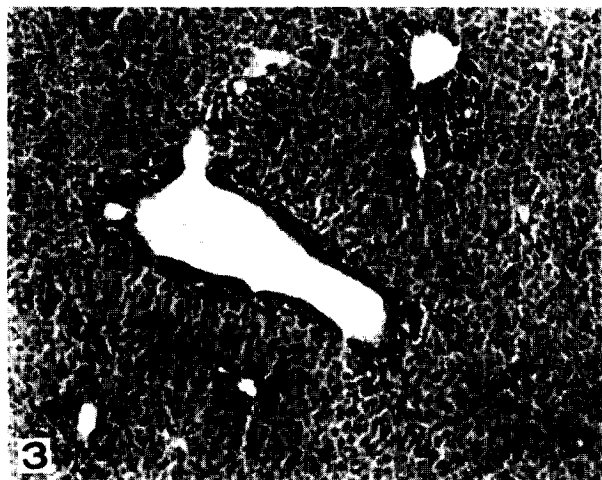
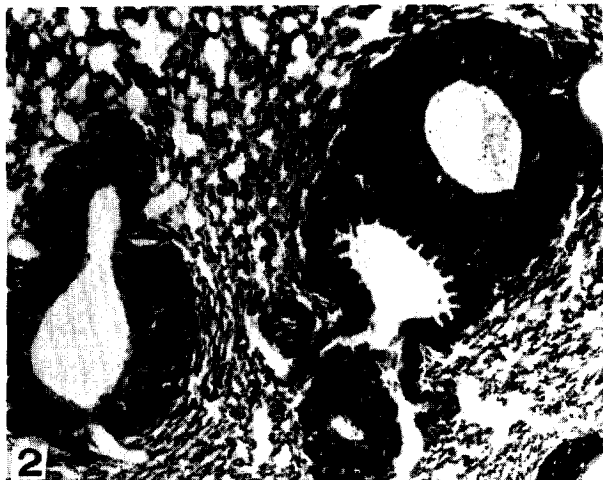
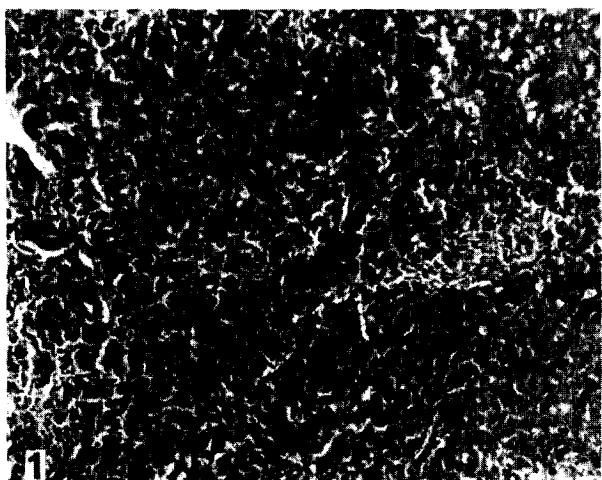
Fig. 2. The lung of the mouse irradiated with 600 rads of $^{60}\text{Co}-\gamma$ ray showing perivascular cuffing of atypical lymphoid cells. Experimental period, 64 weeks. H-E stain. $\times 20$.

Fig. 3. The liver of the mouse irradiated with 600 rads of $^{60}\text{Co}-\gamma$ ray. Shows nodular or diffuse proliferation of tumor cells in the portal triads. Experimental period, 64 weeks, H-E stain. $\times 20$.

Fig. 4. The kidney of the mouse irradiated with 600 rads of $^{60}\text{Co}-\gamma$ ray. Shows diffuse proliferation of lymphoid cells in the cortex. Experimental period, 64 weeks. H-E stain. $\times 20$.

Fig. 5. Pulmonary adenoma in the mouse irradiated with 700 rads of $^{60}\text{Co}-\gamma$ ray. Experimental period, 56 weeks, H-E stain. $\times 20$.

Fig. 6. Adenosquamous cell carcinoma of the pancreas in the mouse irradiated with 400 rads of $^{60}\text{Co}-\gamma$ ray. The intact tissues are seen in the left side. Experimental period, 80 weeks. H-E stain. $\times 20$.



참 고 문 헌

- Casarett, A.P. (1986) Radiation biology. Prentice-Hall Inc., Washington, p.368.
- Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiation, Division of Medical Sciences, Assembly of Life Sciences, (1980) National Research Council, The effects on population of exposure to low-levels of ionizing radiation, National Academy Press, Washington, p.524.
- Donlon, M., Steel, L., Helgeson, E.A., Wolfe, W. W. and Catravas, G.N. (1985) WR-2721 inhibition of radiation-induced prostaglandin excretion in rats. *Int. J. Radiat. Biol.*, 47:205~212.
- Eisen, V. and Walker, D.I. (1976) Effect of ionizing radiation on prostaglandin-like activity in tissues. *Br. J. Pharmac.*, 57:527~532.
- Frankel, R. (1976) Radiation protection for radiologic Technologists. McGraw-Hill book Company, p.150.
- Jo, S.K., Moon, H.S., Yun, Y.S., Oh, Y.R., Kim, S.H. and Yun, T.K. (1986) Sustained defect of natural killer activity after sublethal-irradiation. *Korean J. Immunology*, 8:161~165.
- Kasuga, T., Sado, T., Noda, Y. and Terasima, T. (1978) Radiation-induced tumours in C57BL/6JNrs SPF and C3Hf/HeMsNrs SPF Strain male mice. IAEA-SM-224/203.
- Major, I.R. and Mole, R.H. (1978) Myeloid leukemia in X-ray irradiated CBA mice. *Nature*, 272:455~456.
- Pochin, E.E. (1976) Malignancies following low radiation exposure in man. *Brit. J. Radiol.*, 49: 577~579.
- Sacher, G.A., Tyler, S. A. and Trucco, E. (1978) The quadratic low-LET dose-effect relation for life shortening in mammals, Implications for the assessment of the low-dose hazard to human populations. IAEA-SM-224/408.
- Sinzinger, H., Firbas, W. and Cromwell, M. (1982) Radiation induced alteration in rabbit aortic prostacyclin formation. *Prostaglandins*, 24:323~329.
- Ullich, R.L. and Storer, J.B. (1978) Influence of dose, dose rate and radiation quality on radiation carcinogenesis and life shortening in RFM mice and BALB/C mice. IAEA-SM-224/204.
- Upton, A.C. (1977) Radiobiological effects of low doses, implications for radiological protection. *Radiat. Res.*, 71:51~74.
- Upton, A.C., Allen, R.C., Brown, R.C., Clapp, N.K., Conklin, J.W., Cosgrove, G.E., Darden, E.B., Kastenbaum, M.A., Odell, T.T., Serrano, L.J., Thyndall, R.L. and Walburg, H.E. (1969) Quantitative experimental study of low-level radiation carcinogenesis. IAEA-SM-118/6.
- Upton, A.C., Randolph, M.L. and Conklin, J.W. (1970) Late effects of fast neutron and gamma rays in mice as influenced by the dose rate of irradiation induction of neoplasia. *Radiat. Res.*, 41:467~491.
- Upton, A.C., Randolph M.L. and Conklin J.W. (1967) Late effects of fast neutrons and gamma rays in mice as influenced by the dose rate of irradiation: Life shortening. *Radiat. Res.*, 32: 493~509.