

# 갑상선암 환자에서 방사성옥소 (<sup>131</sup>I) 치료로 인한 림프구의 자매염색분체교환(SCE) 빈도 증가

전남대학교병원 핵의학과, 일반외과\*

최 근 희·범 희 승·김 광 윤  
김 지 열·윤 정 한\*·제 갈 영 종\*

동신전문대학교

김 재 민

= Abstract =

## Increased Frequency of Sister Chromatid Exchanges After <sup>131</sup>I Therapy in Lymphocytes of Thyroid Cancer Patients

Keun Hee Choi, M.S., Hee Seung Bom, M.D., Kwang Yoon Kim, M.S., Ji Yeul Kim, Ph.D.  
Jung Han Yoon, M.D.\* and Young Jong Jae Gal, M.D.\*

Department of Nuclear Medicine, and Surgery,\* Chonnam University Medical School, Kwangju, Korea

Jae Min Kim, Ph.D.

Dong Shin College

To evaluate the genotoxic effect of <sup>131</sup>I, lymphocytes from 9 patients who underwent large dose (150 mCi) <sup>131</sup>I therapy after total thyroidectomy were studied for sister chromatid exchanges (SCE) before and after their first radioiodine treatments. Frequency of SCE (FSCE) was counted in chromosomes of 30 lymphocytes in each patients, and was expressed as numbers of SCE per cell. Numbers of leukocytes were also observed during <sup>131</sup>I therapy.

Pretreatment FSCE ( $4.2 \pm 0.7$ ) was not different from the control ( $3.8 \pm 0.4$ ,  $p=0.17$ ). However, the frequency was significantly elevated after <sup>131</sup>I administration (at the second day,  $7.9 \pm 0.8$ ,  $p<0.001$ ) and was diminished but still significantly elevated after a week (at 9th day,  $6.4 \pm 0.6$ ,  $p<0.001$ ). While counts of leukocytes in the peripheral blood showed no change ( $p>0.05$ ).

In conclusion, chromatids of human lymphocytes were significantly damaged after <sup>131</sup>I treatment without any bone marrow supression. And the repair of SCE was not complete within one week.

**Key Words:** <sup>131</sup>I therapy, SCE

### 서 론

방사성옥소 (<sup>131</sup>I)는 인체의 갑상선 세포에 섭취되는 특성으로 인하여 전이성 분화갑상선암의 치료에 널리 이

용되는 방사성동위원소이다. 이 치료는 간편하면서도 효과적인 방법으로 인정받아 날로 많이 사용되고 있으나, 체내에 조사되는 방사선이 인체에 미치는 유전학적인 영향에 대해서 아직 국내에서는 연구가 활발하게 이루어지지 않고 있다.

방사선이 핵내의 염색체에 작용할 때 염색체의 손상이 비교적 적은 경우 자매염색분체교환을 이용하여 그 손상 정도를 검정하는 것이 보편적이다. 자매염색분체교환 (Sister Chromatid Exchange, 이하 SCE)은 자매염색 분체가 상동부분을 서로 교환하는 현상으로 여기에는 DNA 수선의 과정이 관여하고 있는데, DNA 자체를 분석하는 방법은 복잡하고 여러가지 실험기기를 요하는데 비해, SCE 빈도관찰은 비교적 간편하고, 광학현미경하에서도 가시적으로 세포유전적인 효과를 관찰할 수 있다

는 면에서 널리 사용되고 있으며<sup>1-4)</sup>, 특히 방사선에 대단히 민감한 반응을 나타내기 때문에 자매염색분체교환법은 방사선이 세포에 미치는 영향을 알아보는 데 있어서 필수적이고도 유용한 실험방법이다.

본 연구에서는  $^{131}\text{I}$  치료에 의한 환자의 염색체 손상 여부를 알아보기 위하여  $^{131}\text{I}$  투여 전후의 SCE 빈도를 조사하고, 이를 대조군과 비교하였으며, 같은 기간 중 말초혈액 백혈구 수의 변화를 같이 관찰하였다.

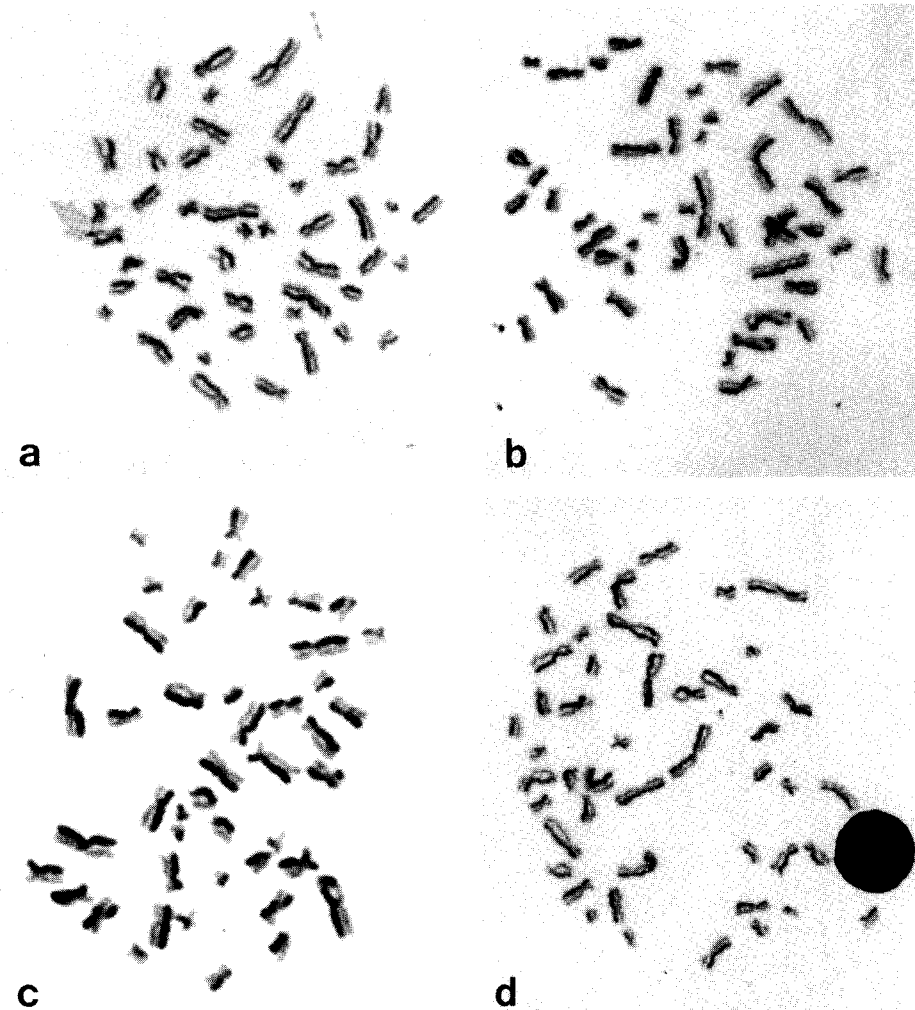


Fig. 1. Photomicrograph of sister chromatid exchange (SCE) of human lymphocytes.

- a. control (number of SCE=4)
- b. one day before  $^{131}\text{I}$  treatment (number of SCE=5)
- c. second day after  $^{131}\text{I}$  treatment (number of SCE=9)
- d. ninth day after  $^{131}\text{I}$  treatment (number of SCE=8)

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

건강한 7명의 대조군(남자 6명, 여자 1명, 평균연령 31세) 및 분화갑상선암에 대한 갑상선 전절제술을 받은 전이성 분화갑상선암 환자 9명(남자 1명, 여자 8명, 평균연령 41세)에서 채취한 말초혈액 림프구를 대상으로 자매염색분체교환을 조사하였다. 모든 대상자들은 실험 전에 직업적인 방사선 노출 여부, 거주지의 환경, 가족 간의 계보적 내역 등을 직접 면담을 통해 조사하였다. 환자들은 본 연구시의 방사성 옥소 이외의 노출은 없는 것으로 확인했으며, 대조군 역시 동일한 절차를 거쳐서 방사선오염이 없는 상태를 확인한 후 선택하였다.

<sup>131</sup>I은 캡슐의 형태로 제조된 Amersham사 제품을 구입하여 환자로 하여금 구강을 통해 100 ml의 음용수와 함께 복용토록 하였으며, 전 환자에서 치료용량은 150 mCi였다.

### 2. 방 법

Heparin을 처리한 주사기에 환자의 혈액 3 ml를 채혈 하여, 20% fetal bovine serum 이 함유된 배양액 RPMI 1640(Gibco) 6 ml가 들어있는 배양용기에 혈액 20 방울을 떨어뜨린 후 phytohemagglutinin(PHA-M, Gibco)을 120 ml 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 부란기에서 24시간 배양하고, 5-bromodeoxyuridine(BrdU, Sigma)의 최종 농도가 10 µg/ml이 되도록 배양 용기에 첨가하여 빛이 차단된 상태에서 48시간 배양하였으며, 배양이 끝나기 2시간 전에 colcemide의 최종 농도가 0.05 µg/ml이 되도록 첨가하였다. 배양이 끝난 후 배양액

을 실온에서 1,200 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층을 제거하고, 여기에 0.075 M KCl 용액을 6 ml 넣어 혼합한 후, 37°C로 유지된 수조에서 15분간 배양하였다. 이를 다시 2,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층을 제거한 후, 고정액(methanol : acetic acid=3 : 1)을 6 ml 첨가하여 혼합한 다음 4°C로 15분간 냉장보관하고, 다시 꺼내어 실온에서 2,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 이 과정을 2회 반복한 후 -20°C로 24시간 이상 냉동보관한 다음, 실온에서 2,000 rpm으로 원심 분리하여 상층을 제거하고 침전물만을 잘 혼합하여 미리 준비해 둔 슬라이드글라스 위에 두 세방울 떨어뜨려 상온에서 공기 건조시켰다.

슬라이드글라스를 Hoechst 33258(Sigma) 용액에 15분 동안 담궈 BrdU와 반응시킨 후 커버글라스로 덮고 실온에서 10 cm의 거리로 3시간 동안 UV(366 nm) 조사시켰다. 그런 다음 60°C, 2×SSC 완충용액에 30분간 처리하고, 4% Giemsa 시약으로 7분간 염색하여 공기 건조시켰다. 광학 현미경으로 30개의 중기 염색체를 관찰하여 세포당 SCE 빈도를 계수하였다.

## 결 과

대조군(56세 남자) 및 방사성옥소(<sup>131</sup>I, 150 mCi) 투여 전후의 한 환자(44세 여자, 유두양갑상선암)의 림프구에서 관찰한 SCE 소견을 Fig. 1에 보였다.

대조군 및 대상 환자에서의 SCE 빈도를 Table 1 및 Fig. 2에 표시하였다. 환자군에서 치료전의 SCE 빈도는 대조군과 차이가 없었으나(p>0.05), <sup>131</sup>I 치료후 SCE 빈도는 유의하게 증가하였으며, 치료 1주일 후에는 치료 직후에 비해 감소하였으나, 치료전에 비해서는 아직 유

Table 1. Frequencies of Sister Chromatid Exchanges (FSCE) and Leukocyte Counts in Controls and in Metastatic Thyroid Cancer Patients before and after <sup>131</sup>I (150 mCi) Therapy

		FSCE (mean ± SD)	WBC (mean ± SD)
Control	n=7	3.8 ± 0.4	5.6 ± 1.4
Patients			
before treatment (Tx)	n=9	4.2 ± 0.7	5.6 ± 1.3
2 days after Tx	n=9	7.9 ± 0.8*	6.0 ± 1.3
9 days after Tx	n=8	6.4 ± 0.6*,#	5.7 ± 1.8

\* p < 0.001 as compared to the pretreatment FSCE.

# p = 0.002 as compared to the 2nd day after Tx FSCE.

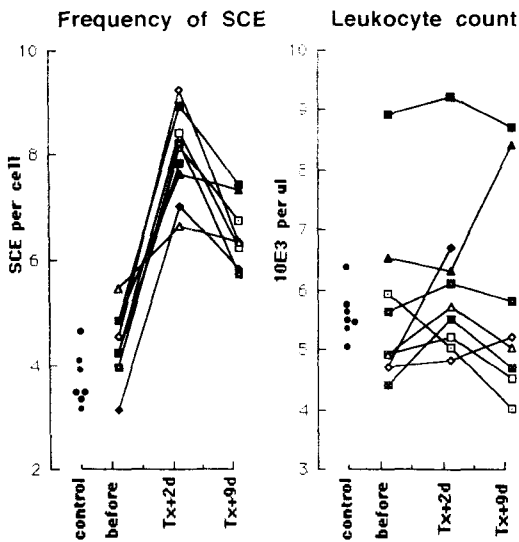


Fig. 2. Changes of sister chromatid exchanges (SCE) and leukocyte counts in 9 patients with metastatic thyroid cancer treated with <sup>131</sup>I 150 mCi.

의하게 높은 수준을 보였다. 한편 말초혈액 백혈구의 수는 <sup>131</sup>I 치료 전후에 유의한 차이를 보이지 않았다.

## 고 찰

갑상선암 또는 갑상선기능항진증의 치료를 위해 방사성옥소를 투여한 경우 백혈병의 발병이 증가하는지에 대해서는 아직도 논란의 여지가 있다. 방사선이 세포의 핵 내에 독성 영향을 끼쳐 유전적 변이를 일으킬 때 염색체에 미치는 손상은 그 정도에 따라 대손상(macrolesion)과 소손상(microlesion)으로 나눌 수 있는데, 대손상을 조사하는 방법으로는 염색체의 숫적 및 구조적 이상을 조사하는 방법과 미소핵검사가 많이 쓰이고, 소손상을 조사하는 방법으로는 자매염색분체교환(SCE)의 빈도를 조사하는 것이 대표적이다.

1957년 Taylor 등<sup>5)</sup>이 식물 염색체에서 처음 시도한 이래 많은 연구가 진행되다가 Perry와 Wolff<sup>6)</sup>가 타이미딘 유사체인 5-Bromodeoxyuridine(BrDU)을 이용한 방법을 발표하여 쉽게 분석하게 된 자매염색분체교환의 분석법은 DNA에 손상을 주는 각종 방사선의 독성 영향을 검정하는데 널리 사용되어 왔다<sup>7-9)</sup>. Ardito G 등<sup>10)</sup>은 갑상선암 환자를 <sup>131</sup>I 1회 치료군과 2회 이상 치

료한 군의 두 군으로 분류하여, 1회 치료군과 반복 치료군 사이에 <sup>131</sup>I 투여로 인한 SCE 빈도가 유의한 변화를 보이지 않는다고 보고하였다. 그러나 <sup>131</sup>I 치료 전후에 같은 환자에서 SCE 빈도의 변화를 관찰한 보고는 저자들이 아는 한 찾기 힘들다.

본 연구의 결과 SCE 빈도가 대조군이  $3.8 \pm 0.4$ , 투여 전 환자군은  $4.2 \pm 0.7$ 을 보여 대조군에 비해 갑상선암 환자군에서 <sup>131</sup>I 투여전에는 차이를 보이지 않았다. 따라서 분화갑상선암 환자가 암 자체에 의해 염색체의 손상이 야기되거나 또는 염색체의 손상이 의해 암이 발생했을 가능성은 없는 것으로 보인다. 그러나, <sup>131</sup>I 투여후 2일에는  $7.9 \pm 0.8$ 으로 SCE 빈도가 유의하게 증가하였고( $p < 0.001$ ), 9일째에도  $6.4 \pm 0.6$ 으로 2일째에 비해서는 유의하게 감소하였으나( $p=0.002$ ), 치료전에 비해서는 아직도 유의하게 높았다( $p < 0.001$ ). 요약하면 <sup>131</sup>I 투여에 의해 염색분체의 손상이 일어난다는 사실과 염색분체의 손상이 회복되어 간다는 사실을 본 연구가 밝힌 것으로 판단된다.

그러나 <sup>131</sup>I 투여용량에 따라 염색분체 손상에 차이가 있는지, 언제 염색분체의 손상이 완전히 회복되는 것인지에 대해서는 앞으로 추구해야 할 과제로 생각된다. 한편 <sup>131</sup>I 치료 중 말초혈액 백혈구, 적혈구 및 혈소판의 수는 변화를 보이지 않았으므로(적혈구 및 혈소판 수의 수치는 생략하였음), 치료에 의해 골수의 억제가 일어나지는 않았던 것으로 보인다.

## 요 약

전이성 분화갑상선암을 치료할 목적으로 사용된 <sup>131</sup>I에 의한 염색체 손상여부를 검정하기 위하여 치료 전후의 자매염색분체교환(SCE)의 빈도 및 말초혈액의 백혈구수를 정상대조군과 환자군에서 조사하였다.

1) 정상인으로 설정한 대조군에 있어서의 자매염색분체교환 빈도수가  $3.8 \pm 0.4$ 인데 비하여 <sup>131</sup>I 투여전의 SCE 빈도가  $4.2 \pm 0.7$ 으로 차이를 보이지 않았다( $p=0.17$ ).

2) <sup>131</sup>I 투여후 2일째 SCE 빈도는  $7.9 \pm 0.8$ 으로 치료전에 비해 유의하게 증가하였으며( $p < 0.001$ ), 9일째에는  $6.4 \pm 0.6$ 으로 2일째에 비해서는 유의하게 감소하였으나( $p=0.002$ ), 치료전에 비해서는 아직도 유의하게 높았다( $p < 0.001$ ).

3) 같은 기간동안 백혈구의 수는 유의한 변화를 보이지 않았다.

결과적으로,  $^{131}\text{I}$  치료후 염색분체의 손상은 일어나며, 서서히 회복되나 1주일 이내에는 완전한 회복을 보이지 않음을 알 수 있었다.

## REFERENCES

- 1) Sudharsan RA, Heddle JA: *Simultaneous detection of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. Mutation Research* 78:253-260, 1980
- 2) Wolff S: *Measurement of sister chromatid exchange in mammalian cells. In DNA repair: A Laboratory Manual of Research Procedures Vol. 1. Part B (E.C. Friedberg, and P.C. Hanawalt, Eds.) Dekker, New York, 1981*
- 3) Aghamohammadi SZ, Goodhead DT, Savage JRK: *Production of chromosome aberrations, micronuclei, and sister-chromatid exchanges by 24-kev epithermal neutrons in human  $G_0$  lymphocytes. Mutation Research* 211:225-230, 1989
- 4) Abe S, Sasaki M: *Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in chinese hamster cells exposed to various chemicals. J Natl Cancer Inst* 58:1635-1641, 1977
- 5) Taylor JH, Woods PS, Hughes WL: *The organization and duplication of chromosome as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. Proc Natl Acad Sci U S A* 13:122-128, 1957
- 6) Perry P, Wolff S: *New giemsa method for differential staining of sister chromatids. Nature* 261:156-158, 1974
- 7) Allen JW, Latt SA: *In vivo BrDU-33258 Hoechst analysis of DNA replication kinetics and sister chromatid exchange formation in mouse somatic and meiotic cells. Chromosoma* 58:325-340, 1976
- 8) Kato H, Sandberg A: *The effects of sera on sister chromatid exchanges in vitro. Exp Cell Res* 109:455-448, 1977
- 9) Latt SA, Latt RR: *Shreck Sister chromatid exchange analysis. Am J Hum Genet* 32:297-313, 1980
- 10) Ardito G, Lamberti L, Bigatti P, Cottino F: *Comparison of chromosome aberration frequency before and after administration of  $^{131}\text{I}$  in two groups of thyroid cancer patients. Tumori* 73:257-262, 1987