

감마선 조사에 의한 뇌조직의 *Jun* 및 *p53* 유전자 발현

한양대학교 의과대학 생화학교실, 치료방사선과학교실*

김용석 · 우종규 · 이용성 · 고재경 · 전하정* · 이명자*

= Abstract =

Expression of *Jun* and *p53* Genes from the Brain of Rats Irradiated with ^{60}Co γ -ray

Yong Seok Kim, Chong Kyu Woo, Yong Sung Lee, Jai Kyung Koh, Ha Chung Chun, M.D.* and Myung Za Lee, M.D.*

Department of Biochemistry, College of Medicine, Hanyang University

**Department of Therapeutic Radiology, Hanyang University Hospital*

Damage produced by radiation elicits a complex response in mammalian cells, including growth rate changes and the induction of a variety of genes associated with growth control and apoptosis.

At doses of 10,000 cGy or greater, the exposed individual was killed in a matter of minutes to a couple of days, with symptoms consistent with pathology of the central nervous system(CNS) including degenerative changes. The nature of the damage in irradiated cells underlies the unique hazards of ionizing radiation. Radiation injury to CNS is a rare event in clinical medicine, but it is catastrophic for the patient in whom it occurs. The incidence of cerebral necrosis has been reported as high as 16% for doses greater than 6,000 cGy.

In this study, the effect of radiation on brain tissue was studied in vivo. *Jun* and *p53* genes in the rat brain were induced by whole body irradiation of rat with ^{60}Co in doses between 1 Gy and 100 Gy and analyzed for expression of *jun* and *p53* genes at the postirradiation time up to 6 hours. Northern analyses were done using 1.8 Kb & 0.8 Kb-pGEM-2-*JUN*/Eco RI/Pst I fragments, 2.0 Kb-ph $p53$ B/Bam HI fragment and 1.1 Kb-pBluescript *SK--ACTIN*/Eco RI fragment as the digoxigenin or [α ^{32}P]dCTPlabeled probes for *Jun*, *p53* and β -actin genes, respectively.

Jun gene seemed to be expressed near the threshold levels in 1 hour after irradiation of ^{60}Co in dose less than 1 Gy and was expressed in maximum at 1 hour after irradiation of ^{60}Co in dose of 30 Gy. *Jun* was expressed increasingly with time until 5 or 6 hours after irradiation of ^{60}Co in doses of 1 Gy and 10 Gy. After irradiation of ^{60}Co in dose between 20 Gy and 100 Gy, the expression of *Jun* was however increased to peak in 2 hours and de-

본 논문은 1996년 2월 9일 접수하여 1996년 12월 14일에 채택되었음.

본 논문은 1995년도 한양대학교 교내연구비의 일부 보조로 이루어졌음.

creased thereafter.

p53 gene in this study also seemed to be expressed near the threshold levels in 1 hour after irradiation of ^{60}Co in dose less than 1 Gy and was expressed in maximum at 6 hours after irradiation of ^{60}Co in dose of 1 Gy. *p53* was expressed increasingly with time until 5 or 6 hours after irradiation of ^{60}Co in dose between 1 Gy and 40 Gy. After irradiation of ^{60}Co in doses of 50 Gy and 100 Gy, the expression of *p53* was however increased to peak in 2 hours and decreased thereafter. The expression of *Jun* and *p53* genes was not correlative in the brain tissue from rats.

It seemed to be very important for the establishment of the optimum conditions for the animal studies relevant to the responses of genes inducible on DNA damage to ionizing radiation in mammalian cells. But there are many limitations to the animal studies such as the ununiform patterns of gene expression from the tissue because of its complex compositions. It is necessary to overcome the limitations for development of in situ Northern analysis.

Key Words : *Jun*, *p53*, brain, Gamma ray, Northern analysis

서 론

유핵 세포에서의 전리 방사선의 전사 조절 변화 및 유전자 발현의 전사 후 조절 변화에 대해서 현재까지 알려진 바로는 이온화 방사선의 조사를 받은 유핵세포에서는 세포 주기가 중단되며 DNA 복구 기전이 활성화된다¹⁾. 방사선 조사에 의해 발현되는 유전자 중에는 *ras*, *fos* 및 *jun*과 같은 암 유전자²⁾와 함께 EGFR (epidermal growth factor receptor)-1 유전자 군, GADD(growth arrest and DNA damage inducible)45 유전자, tumor necrosis factor, platelet-derived growth factor, fibroblast growth factor 및 interleukin-1 등의 유전자가 있다¹⁾. 이들 유전자 발현의 증가는 전사 조절 인자가 DNA의 특정 부위에 작용한 결과로서 *jun* 및 *fos* 유전자의 발현 산물인 AP (activator protein)-1이 대표적인 전사 조절 인자이다^{1, 3)}.

방사선은 상기한 여러 유전자의 발현 유도과 함께 염색체 손상의 직접적인 결과로서의 apoptosis를 초래하며⁴⁾ 방사선에 의한 세포 손상 기전은 전리 방사선의 경우 직접적으로 또는 유리기 형성을 통하여 DNA에 손상을 주며 돌연변이, 악성 종양 및 세포사 등을 초래한다^{5, 6)}. 본 연구에서는 실험동물의 전신 조사 방법에 의하여 방사선 조사의 영향을 생체에서 파악하고자 1 Gy로부터 100 Gy 범위의 각 용량별 코발트

트 60 감마선을 흰 쥐에게 전신 조사한 뒤 1시간에서 6시간에 걸친 경과 시간 별로 뇌조직에서의 *jun*, *p53* 및 β -actin 유전자 발현을 Northern 분석하여 *jun* 암유전자와 종양 억제 인자이면서 전사 조절 인자인 *p53*의 발현을 β -actin 유전자 발현양에 의해 보정함으로써 *jun* 및 *p53* 유전자의 정밀한 발현도 분석과 apoptosis를 초래하는 이들 유전자의 최대 발현을 위한 감마선의 최적 용량 및 조사 시간대를 측정하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물

중량 120 gram의 Sprague-Dawley 옹성 흰쥐를 항온 항습 조건에서 10일간 사육한 뒤 대조군 및 감마선 조사군으로 분류하여 감마선 조사 후 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간 및 6시간 췌에 각기 뇌조직을 추출하여 phosphate buffered saline(137mM NaCl, 2.7mM KCl, 4.3mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.4mM KH_2PO_4 ; pH 7.4) 용액으로 세척후 액체 질소 하에서 조직 마쇄기로 분말화한 조직 1gm으로부터 RNA를 추출하였다.

2. 감마선 조사

감마선 조사는 코발트 60(ATC C9 Co 60 Tele-

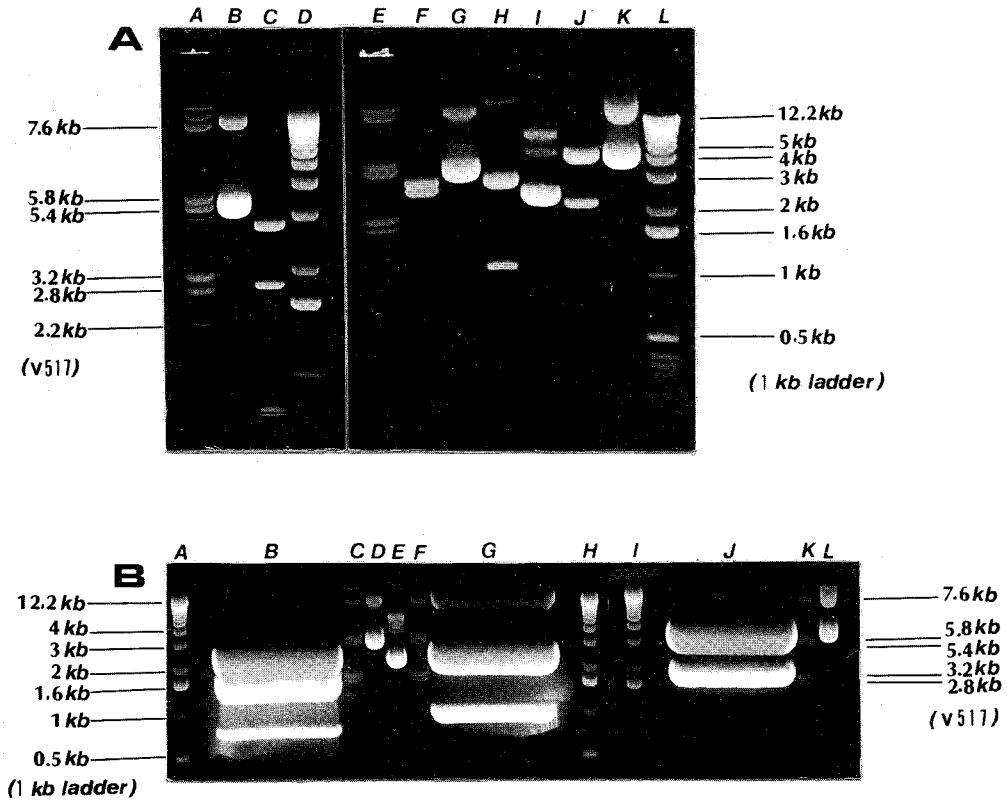


Fig. 1. Preparation of *jun*, *p53*, and *actin* gene-containing restriction fragments as probes in Northern analysis.

(A) Analytic restriction of the plasmids containing *jun*(pGEM 2-JUN), *p53*(*php53B-p53*), and *actin* (pBluescript SK-ACTIN) genes

lane A,E: V517(Size marker for covalently closed circular form DNA)

lane B,G: pGEM 2-JUN

lane C: pGEM 2-JUN/Eco RI/Pst I

lane D,L: 1 Kb ladder DNA(Size marker for linearized DNA)

lane F: pGEM 2-JUN/Eco RI

lane H: pBluescript SK-ACTIN/Eco RI

lane I: pBluescript SK-ACTIN

lane J: *php53B-p53/Bam* HI

lane K: *php53B-p53*

(B) Preparative restriction of pGEM 2-JUN, *php53B-p53*, and pBluescript SK-ACTIN

lane A,H,I: 1 Kb ladder DNA(Size marker for linearized DNA)

lane B: pGEM 2-JUN/Eco RI/Pst I

lane C,F,K: V517(Size marker for covalently closed circular form DNA)

lane D: pGEM 2-JUN

lane E: pBluescript SK-ACTIN

lane G: pBluescript SK-ACTIN/Eco RI

lane J: *php53B-p53/Bam* HI

therapy; Medical advanced system사:USA)을 이용하여 1000 cGy당 6.55분 time/fraction SSD-type beam 조건으로 시행하였다. 조사량은 1 Gy, 10 Gy, 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy, 50 Gy 및 100 Gy로서 각 조

사량 별로 3마리씩의 흰쥐를 대상으로 하였다.

3. RNA 추출 및 전기영동 분석

RNA는 acid guanidinium thiocyanate-phenol-

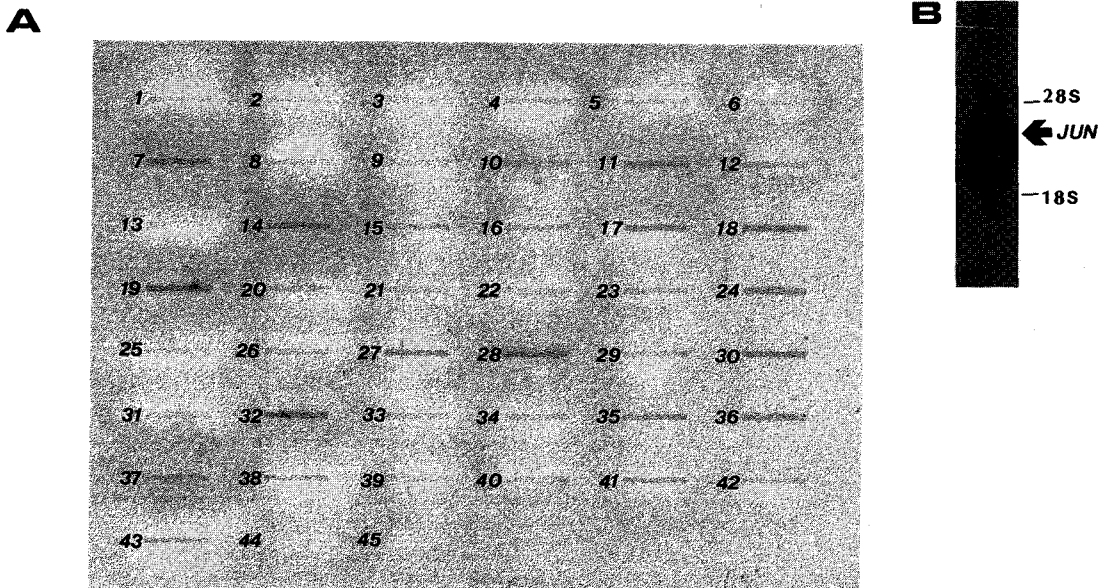


Fig. 2. Northern analysis of the expression of *jun* by the irradiation of γ -rays using Cobalt 60
 (A) Slot blot analysis using Digoxigenin labelling and detection system.
 *Brain RNA(30 μ g per lane) of which group was irradiated using Cobalt 60 γ -rays and was analyzed according to the radiation dose and the postirradiation time as follows; lane 1:1 Gy-1 H(hour); lane 2:1 Gy-2 H; lane 3:1 Gy-3 H; lane 4:1 Gy-4H; lane 5:1 Gy-5 H; lane 6:1 Gy-6 H; lane 7:10 Gy-1 H; lane 8: 10 Gy-2 H; lane 9:10 Gy-3H; lane 10: 10 Gy-4H; lane 11: 10 Gy-5H; lane 12: 10 Gy-6H; lane 13: 20 Gy-1H; lane 14:20 Gy-2H; lane 15:20 Gy-3H; lane 16: 20 Gy-4H; lane 17: 20 Gy-5H; lane 18: 20 Gy-6H; lane 19: 30 Gy-1H; lane 20: 30 Gy-2H; lane 21: 30 Gy-3H; lane 22: 30 Gy-4H; lane 23:30Gy-5H; lane 24:30Gy-6H; lane 25:40Gy-1H; lane 26: 40Gy-2H; lane 27: 40Gy-3H; lane 28: 40Gy-4H; lane 29: 40Gy-5H; lane 30: 40Gy-6H; lane 31: 50Gy-1H; lane 32: 50Gy-2H; lane 33:50Gy-3H; lane 34: 50Gy-4H; lane 35: 50Gy-5H; lane 36: 50 Gy-6H; lane 37: 100 Gy-1H; lane 38: 100 Gy-2H; lane 39: 100 Gy-3H; lane 40: 100 Gy-4H; lane 41: 100 Gy-5H; lane 42: 100 Gy-6H; lane 43: Digoxigenin-labelled control DNA(pBR328); lane 44: *jun*-negative control RNA(28S and 18S rRNA from *Saccharomyces cerevisiae*); lane 45: Cobalt 60-negative control RNA(total RNA of brain tissues from nonirradiated rats)
 (B) Identified expression of *jun* by autoradiography

chloroform추출법⁷⁾ 을 이용하여 분말화된 뇌조직 1 gm으로부터 추출하였다. RNA는 3배 량의 ethanol (Merck사)에 혼합하여 -70C에 보관하였다.

RNA전기영동은 0.7% agarose(type I;Sigma사), 1 배 formaldehyde gel-running 용액(0.1 M 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid(MOPS), pH 7; 40 mM sodium acetate;5 mM EDTA, pH 8;Sigma사)과 2.2M의 formaldehyde(Sigma사)로 조성된 겔을이용하였다. 30 μ g 의 RNA시료를 formaldehyde(Sigma사) 및 formamide(Sigma사)와 혼합하여 변성시킨 후 40 볼트로 5시간동안 전기영동하였다. 전기영동 용매로는 formaldehyde gel-running 용액을 사용하였다.

4. *Jun*, *p53* 및 *Actin* 탐침의 제작

Northern 분석을 위한 *jun*, *p53* 및 *actin* 탐침제작을 위하여 LB 배양액(LB;1% bactotryptone;Difco사, 0.5% yeast extract;Difco사, 1% NaCl;Sigma사)에 ampicillin(Sigma사)을 60 μ g/ml의 농도로 함유시킨 조건으로 37C에서 18시간 진탕배양된 각 균주 즉, *jun*유전자가 pGEM-2의 Eco RI위치에 삽입된 *E. coli* HB101균주(ATCC #63026)와 *p53*유전자가 pBR322의 Bam HI위치에 삽입된 *E. coli* 균주(ATCC #57254)및 β -Actin 유전자가 pBluescript SK-의 Eco RI위치에 삽입된 *E. coli* XL1-Blue균주(ATCC #65128)를 alkaline lysis방법^{8,9)} 과 cesium chloride-ethidium bromide gradient 초원심분리법으로 처리하여 플라스미

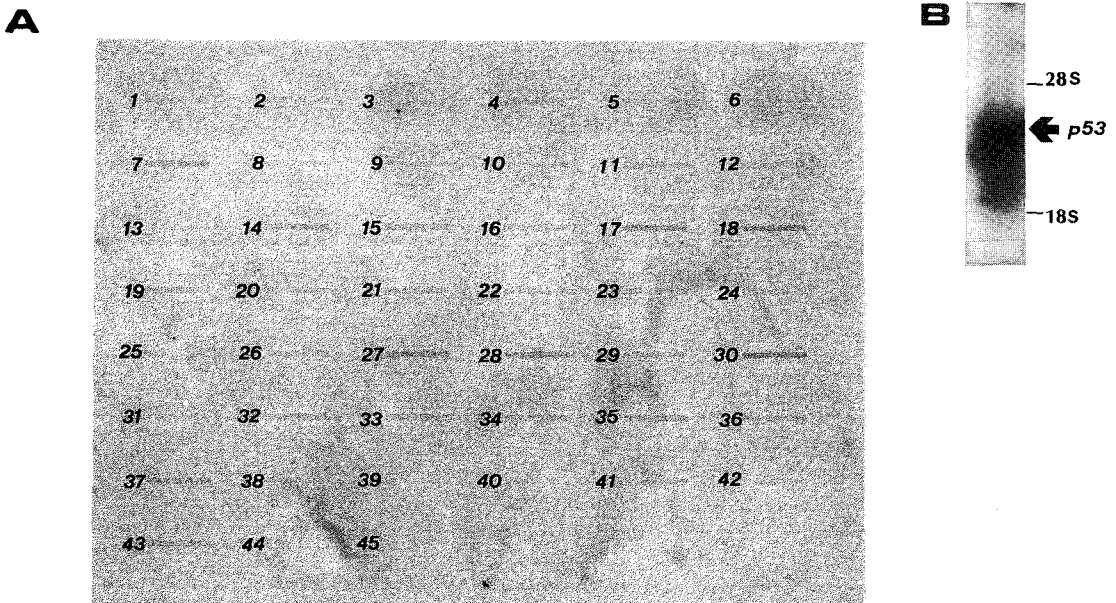


Fig. 3. Northern analysis of the expression of p53 by the irradiation of γ -rays using Cobalt 60.

(A) Slot blot analysis using Digoxigenin labelling and detection system

**Brain RNA(30 g per lane) of which group was irradiated using Cobalt 60 γ -rays and was analyzed according to the radiation dose and the postirradiation time as follows: lane 1:1 Gy-1 H(hour); lane 2:1 Gy-2 H; lane 3:1 Gy-3 H; lane 4:1 Gy-4H; lane 5:1 Gy-5 H; lane 6:1 Gy-6 H; lane 7:10 Gy-1 H; lane 8: 10 Gy-2 H; lane 9:10 Gy-3H; lane 10: 10 Gy-4H; lane 11: 10 Gy-5H; lane 12: 10 Gy-6H; lane 13: 20 Gy-1H; lane 14:20 Gy-2H; lane 15:20 Gy-3H; lane 16: 20 Gy-4H; lane 17: 20 Gy-5H; lane 18: 20 Gy-6H; lane 19: 30 Gy-1H; lane 20: 30 Gy-2H; lane 21: 30 Gy-3H; lane 22: 30 Gy-4H; lane 23:30Gy-5H; lane 24:30Gy-6H; lane 25:40Gy-1H; lane 26: 40Gy-2H; lane 27: 40Gy-3H; lane 28: 40Gy-4H; lane 29: 40Gy-5H; lane 30: 40Gy-6H; lane 31: 50Gy-1H; lane 32: 50Gy-2H; lane 33:50Gy-3H; lane 34: 50Gy-4H; lane 35: 50Gy-5H; lane 36: 50 Gy-6H; lane 37: 100 Gy-1H; lane 38: 100 Gy-2H; lane 39: 100 Gy-3H; lane 40: 100 Gy-4H; lane 41: 100 Gy-5H; lane 42: 100 Gy-6H; lane 43: Digoxigenin-labelled control DNA(pBR328); lane 44: p53-negative control RNA(28S and 18S rRNA from *Saccharomyces cerevisiae*); lane 45: Cobalt 60-negative control RNA(total RNA of brain tissues from nonirradiated rats)

(B) Identified expression of p53 by autoradiography

드를 분리 채집하였다. 이후 냉장 투석 과정을 거쳐 정제된 각 플라스미드 용액은 DNA calculator (GeneQuant;LKB Biochrom사;UK)로 정량한 뒤 제한 효소 처리과정을 거쳤다. *Jun* 유전자가 *Eco* RI 위치에 삽입되어 있는 pGEM-2 플라스미드 및 β -actin 유전자가 *Eco* RI 위치에 삽입되어 있는 pBlueScript SK- 플라스미드는 각기 *Eco* RI(Boehringer-Manheim사)에 의해 처리되었다. *Eco* RI으로 처리된 *Jun*-pGEM-2 플라스미드는 *Pst* I에 의해 재처리되었다. p53유전자가 *Bam* HI 위치에 삽입되어 있는 php53B 플라스미드는 *Bam* HI(Boehringer-Manheim사)에 의해 처리되었다. 이후 0.7% low-melting point agarose(BRL사)겔 전기 영동에 의해 각 플라스미드로부터 분리된 *jun*, p53 및 β -actin 유전자 절편은 그 절

편이 들어있는 겔로부터 WizardTM DNA Clean- Up system(Promega사)에 의해 추출되었다. 이후 *jun*, p53 및 β -actin 유전자 절편은 각기 Northern 분석을 위한 탐침으로 사용되었다.

5. Northern 분석

대조군 및 გამ파선 조사군의 RNA시료를 분석하기 위하여 Bio-Dot SF microfiltration slot blot 장치 (Bio-Rad사, USA)를 사용하였고 blotting이후 nylon막을 진공 오븐(Labline 사;USA)에 넣어 80C에서 1시간 가열하였다. 또한 RNA시료가 전기영동된 겔은 electro-blotting장치(TransBlot;BioRad사)에 의해 20 volt, 300 mA에서 8시간동안 blotting 후 nylon막을 진공오븐(Labline 사;USA)에서 80C로 30분간 가열 처리하

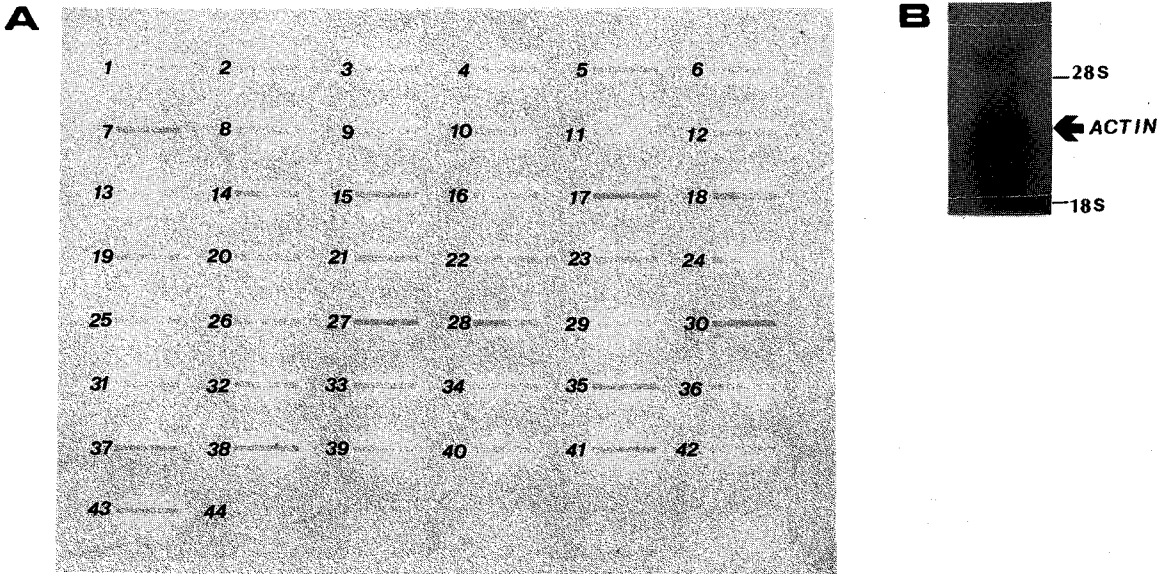


Fig. 4. Northern analysis of the expression of actin in each group of brain tissues from whole-body irradiated rats
 (A) Slot blot analysis using Digoxigenin labelling and detection system
 **Brain RNA(30 g per lane) of which group was irradiated using Cobalt 60 -rays and was analyzed according to the radiation dose and the postirradiation time as follows; lane 1:1 Gy-1 H(hour); lane 2:1 Gy-2 H; lane 3:1 Gy-3 H; lane 4:1 Gy-4H; lane 5:1 Gy-5 H; lane 6:1 Gy-6 H; lane 7:10 Gy-1 H; lane 8: 10 Gy-2 H; lane 9:10 Gy-3H; lane 10: 10 Gy-4H; lane 11: 10 Gy-5H; lane 12: 10 Gy-6H; lane 13: 20 Gy-1H; lane 14:20 Gy-2H; lane 15:20 Gy-3H; lane 16: 20 Gy-4H; lane 17: 20 Gy-5H; lane 18: 20 Gy-6H; lane 19: 30 Gy-1H; lane 20: 30 Gy-2H; lane 21: 30 Gy-3H; lane 22: 30 Gy-4H; lane 23:30Gy-5H; lane 24:30Gy-6H; lane 25:40Gy-1H; lane 26: 40Gy-2H; lane 27: 40Gy-3H; lane 28: 40Gy-4H; lane 29: 40Gy-5H; lane 30: 40Gy-6H; lane 31: 50Gy-1H; lane 32: 50Gy-2H; lane 33:50Gy-3H; lane 34: 50Gy-4H; lane 35: 50Gy-5H; lane 36: 50 Gy-6H; lane 37: 100 Gy-1H; lane 38: 100 Gy-2H; lane 39: 100 Gy-3H; lane 40: 100 Gy-4H; lane 41: 100 Gy-5H; lane 42: 100 Gy-6H; lane 43: Digoxigenin-labelled control DNA(pBR328); lane 44: actin-negative control RNA(28S and 18S rRNA from *Saccharomyces cerevisiae*)
 (B) Expression of actin on autoradiogram

었다.

한편, 상기한 과정에 의해 제작된 *Jun*, *p53* 및 β -*actin* 유전자 탐침은 DIG DNA labeling(Boehringer Mannheim사) system에 의한 digoxigenin-dUTP의 random primed DNA labeling 방식과 [$\alpha^{32}\text{P}$]dCTP 동위원소(Amersham사)를 이용한 random primed DNA labeling 방식(random primed DNA labeling kit; Boehringer Mannheim사)으로 처리되었다. 각 탐침은 사용 전에 100°C에서 10분간 변성시킨 후 nylon막에 결합되어있는 RNA에 대하여 Northern hybridization 을 시행하였다.

결 과

1. *Jun*, *p53* 및 *actin* 탐침의 제작

5.4 Kb의 pGEM-2-*JUN*플라스미드(Fig. 1-A, lane B,G; Fig. 1-B, lane D)는 *Eco* RI으로 처리한 결과 2.8 Kb 및 2.6 Kb의 두가지 절편이 확인되었다. 이들 *Eco* RI 절편을 *Pst* I으로 재처리한 결과 2.8 Kb, 1.8 Kb 및 0.8 Kb의 세가지 절편이 전기영동상에서 확인되었고(Fig. 1-A, lane C) 이 중 1.8 Kb 와 0.8 Kb의 두 절편을 겔로부터 추출하여 *jun* 유전자 탐침으로 사용하였다(Fig. 1-B, lane B). 6.6 Kb의 *php53B*플라스미드(Fig. 1-A, lane K)는 *Bam* HI으로 처리한 결과 4.6 Kb 및 2.0 Kb 의 두가지 절편이 전기영동상에서

Table 1. Relative Expression Ratio* of *p53* and *Jun*

<i>p53</i> expression relative to <i>actin</i> expression (density ratio)								
Time	Dose	1 Gy	10 Gy	20 Gy	30 Gy	40 Gy	50 Gy	100 Gy
1h		1.134	1.050	1.179	1.122	1.144	1.139	1.127
2h		1.128	1.113	1.179	1.143	1.149	1.232	1.237
3h		1.159	1.213	1.114	1.113	1.169	1.204	1.205
4h		1.229	1.132	1.089	1.083	1.152	1.206	1.150
5h		1.178	1.180	1.245	1.198	1.186	1.018	1.139
6h		1.266	1.190	1.218	1.136	1.231	1.196	1.109

<i>Jun</i> expression relative to <i>actin</i> expression (density ratio)								
Time	Dose	1 Gy	10 Gy	20 Gy	30 Gy	40 Gy	50 Gy	100 Gy
1h		1.125	1.313	1.182	1.614	1.194	1.125	1.182
2h		1.111	1.159	1.452	1.176	1.151	1.429	1.193
3h		1.093	1.125	1.221	1.115	1.136	1.188	1.158
4h		1.124	1.187	1.152	1.143	1.379	1.177	1.178
5h		1.090	1.376	1.157	1.128	1.186	1.062	1.171
6h		1.147	1.166	1.070	1.237	1.133	1.275	1.176

*The relative expression ratio of *p53(jun)* was calculated as the density ratio between each corresponding slots of *p53(jun)* and *actin* in Northern results

확인되었는데(Fig. 1-A, lane J) 이 중 1.0 Kb의 절편을 겔로부터 추출하여 *p53* 유전자 탐침으로 사용하였다(Fig. 1-B, lane J). 4.1 Kb의 pBluescript SK--ACTIN 플라스미드(Fig. 1-A, lane I)는 *Eco* RI으로 처리한 결과 3.0 Kb 와 1.1 Kb의 두 절편으로 전기영동상에서 확인되었고(Fig. 1-A, lane H) 이 중 1.1 Kb의 절편을 겔로부터 추출하여 *b-actin* 유전자 탐침으로 사용하였다(Fig. 1-B, lane G).

2. *Jun* 유전자발현 변화

감마선 조사에 의한 뇌조직에서의 *jun* 및 *β-actin* 유전자의 발현(Fig. 2-B, Fig. 4-B)을 digoxigenin으로 표식화된 각 유전자 탐침에 의해 분석하여 나타난 *jun* 유전자 발현도(Fig. 2-A) 를 해당 그룹의 *actin* 유전자 양(Fig. 4-A)으로 보정한 결과 *jun* 유전자발현도는 1 Gy의 감마선 사용시 조사 후 1시간에서 6시간 사이에는 일정치 않았으나 6시간 쯤에 약간의 증가가 있었다(Fig. 5-A). 10 Gy의 조사에서 조사 후 3시간 쯤에 가장 증가되었고 그 외 시간 대에는 뚜렷한 변화가 없이 일정한 발현 수준을 유지하였다(Fig. 5-B). 20Gy의 조사시 조사 후 2시간쯤에 절정에 달하였다가 그 이후부터 조사 후 6시간 사이에 그 발현양이 서서히 감소되는 것으로 보였다(Fig. 5-C). 30 Gy의 조사시 조사 후 1시간 쯤 이후부터 6시간 사이에 그 발현양이

서서히 감소되는 것으로 보였다(Fig. 5-D). 40 Gy의 조사시에 *jun* 유전자의 발현은 조사 후 4시간 쯤에 절정에 도달 후 감소하였다(Fig. 5-E). 50 Gy의 조사시 조사 후 2시간 쯤에 절정에 도달했다가 그 이후부터 조사 후 6시간 사이에 걸쳐 약간 감소된 채로 뚜렷한 변화가 없이 일정한 발현 수준을 유지하였다(Fig. 5-F). 100 Gy의 조사시 조사 후 2시간쯤에 절정에 도달했다가 그 이후부터 조사 후 6시간 사이에 약간의 발현 감소를 나타냈다(Fig. 5-G).

감마선 조사 후의 시간대 별로 관찰된 *jun* 유전자의 발현율은 다음과 같았다. *Jun* 유전자 발현 양이 최대였던 감마선 용량은 조사 후시간 별로 각기 1시간 쯤에 30 Gy (Fig. 6-A), 2시간 쯤에 20 Gy (Fig. 6-B), 3시간 쯤에 20 Gy (Fig. 6-C), 4시간 쯤에 40 Gy (Fig. 6-D), 5 시간 쯤에 10 Gy (Fig. 6-E), 그리고 6 시간 쯤에 50 Gy (Fig. 6-F)였다. 1 Gy로부터 100 Gy의 범위에서 조사 후 1시간에서 6시간까지의 시간 대에서 *jun* 유전자 최대 발현은 30 Gy의 조사 후 1시간 쯤이었다(Table 1).

3. *p53* 유전자 발현 변화

감마선 조사에 의한 뇌조직에서의 *p53* 및 *β-actin* 유전자의 발현(Fig. 3-B, Fig. 4-B)을 digoxigenin으로 표식화된 각 유전자 탐침에 의해 분석하여 나타난

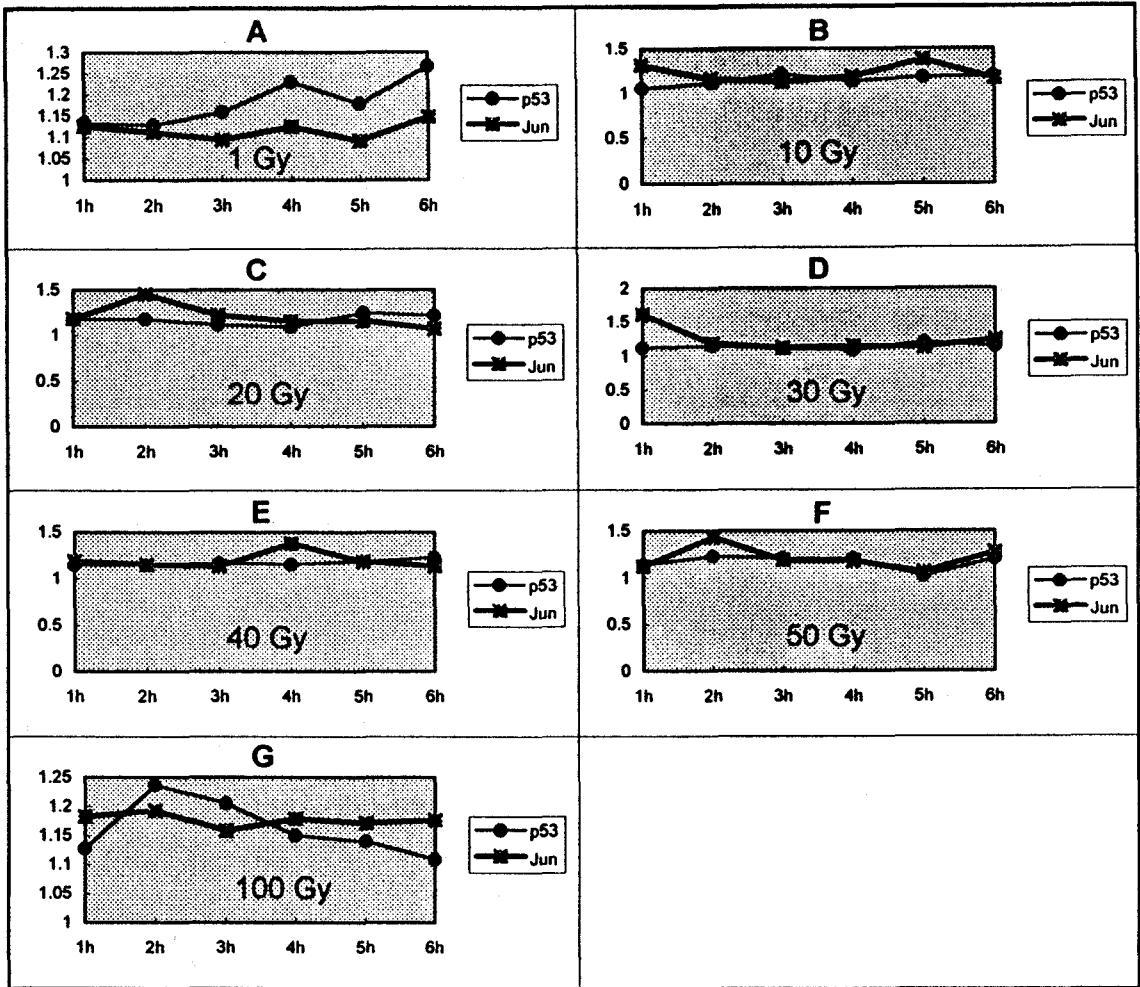


Fig. 5. Comparison of the expression of *jun* and *p53* in each group according to the radiation dose of Cobalt 60 γ -ray.

- A. The expression of *jun* and *p53* in each group during 6 hours after the irradiation in 1 Gy
- B. The expression of *jun* and *p53* in each group during 6 hours after the irradiation in 10 Gy
- C. The expression of *jun* and *p53* in each group during 6 hours after the irradiation in 20 Gy
- D. The expression of *jun* and *p53* in each group during 6 hours after the irradiation in 30 Gy
- E. The expression of *jun* and *p53* in each group during 6 hours after the irradiation in 40 Gy
- F. The expression of *jun* and *p53* in each group during 6 hours after the irradiation in 50 Gy
- G. The expression of *jun* and *p53* in each group during 6 hours after the irradiation in 100 Gy

* Postirradiation time in hour(*) was expressed in X-axis values and the expression(**) of *jun* and *p53* were expressed in Y-axis values.

발현도는 1시간에서 6시간 사이에 서서히 증가되어 6시간 후에 최대였다(Fig. 5-A). 10 Gy의 조사시 조사 후 5시간 후에 가장 증가되었고 그 외 시간 대에는 뚜렷한 변화가 없이 일정한 발현 수준을 유지하였다(Fig. 5-B). 20Gy의 조사시 5시간 후에 약간의 발현 증가율을 보였다(Fig. 5-C). 30 Gy의 조사시 조사 후 5시간 후에 절정에 도달 후 감소하였다(Fig. 5-D). 40

Gy의 조사시에 1시간에서 6시간 사이에 서서히 증가되는 양상을 보였다(Fig. 5-E). 50 Gy의 조사시 조사 후 2시간 후에 절정에 도달했다가 그 이후부터 조사 후 6시간 사이에 걸쳐 약간 감소된 채로 뚜렷한 변화가 없이 일정한 발현 수준을 유지하였다(Fig. 5-F). 100 Gy의 조사시 조사 후 2시간 후에 절정에 도달했다가 그 이후 조사 후 6시간까지 뚜렷한 발현 감소를

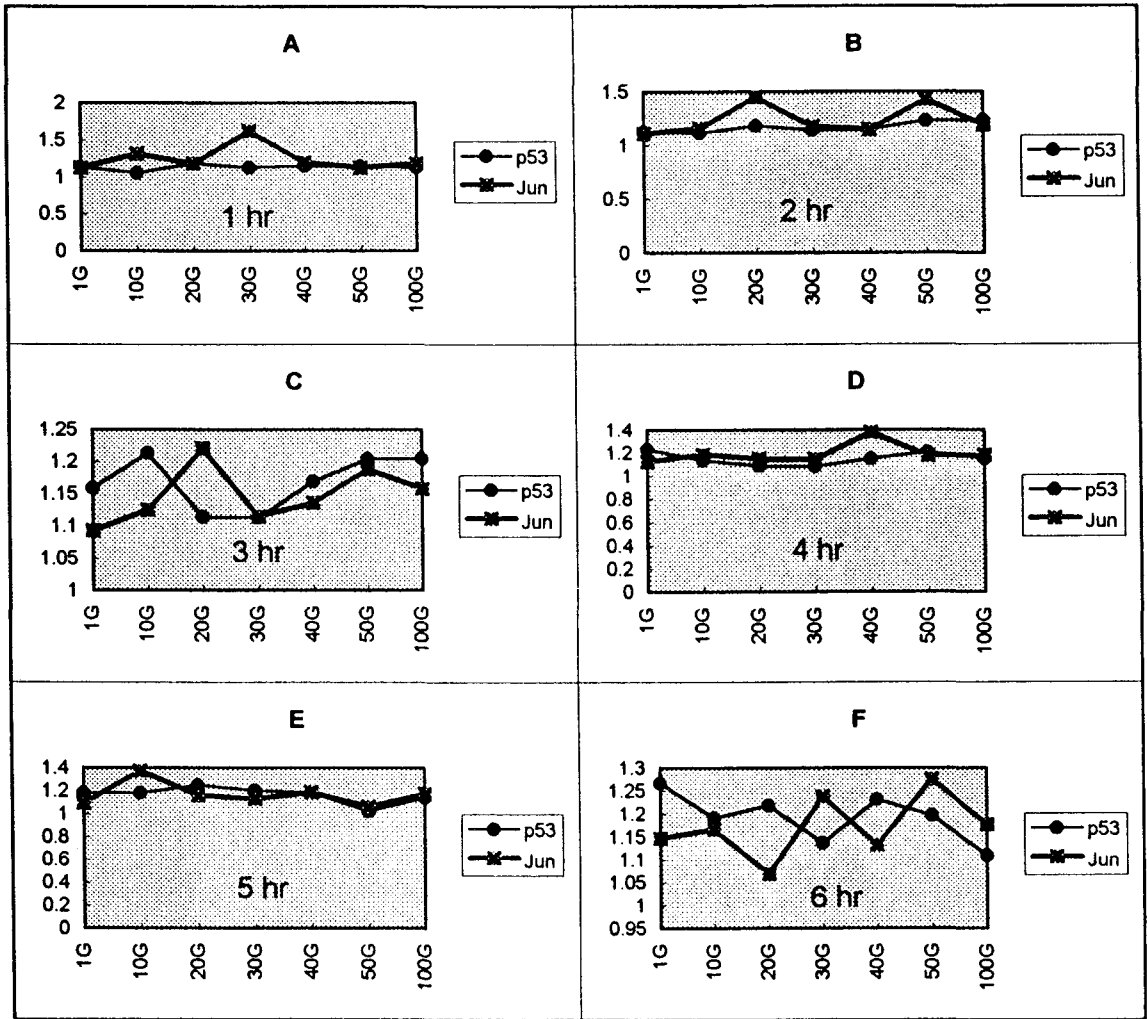


Fig. 6. Comparison of the expression of jun and p53 in each group according to the postirradiation time. A. The expression of jun and p53 in each group at 1 hour after the irradiation in doses from 1 Gy to 100 Gy B. The expression of jun and p53 in each group at 2 hours after the irradiation in doses from 1 Gy to 100 Gy C. The expression of jun and p53 in each group at 3 hours after the irradiation in doses from 1 Gy to 100 Gy D. The expression of jun and p53 in each group at 4 hours after the irradiation in doses from 1 Gy to 100 Gy E. The expression of jun and p53 in each group at 5 hours after the irradiation in doses from 1 Gy to 100 Gy F. The expression of jun and p53 in each group at 6 hours after the irradiation in doses from 1 Gy to 100 Gy * Radiation doses in Gy(*) were expressed in X-axis values and the expression(**) of jun and p53 were expressed in Y-axis values.

나타내었다(Fig. 5-G). 감마선 조사 후의 시간대 별로 관찰한 결과 p53 유전자 발현 양이 최대였던 감마선 용량은 조사 후 시간 별로 1시간 째에 20 Gy (Fig. 6-A), 2시간 째에 100 Gy (Fig. 6-B), 3시간 째에 10 Gy (Fig. 6-C), 4시간 째에 1 Gy (Fig. 6-D), 5 시간 째에 20 Gy (Fig. 6-E), 그리고 6 시간 째에 1 Gy (Fig. 6-F)였다. 1 Gy로부터 100 Gy범위의 조사 후 1

시간에서 6시간까지의 시간 대에서 p53 유전자 최대 발현은 1 Gy의 조사 후 6시간 째였다(Table 1).

고 안

감마선을 비롯한 방사선은 정상 세포와 암세포의 방사선에 대한 민감도의 차이를 이용하여 암을 치료하

는 목적으로도 사용되지만¹⁰⁾ 돌연변이 형성을 통하여 암을 초래하기도 한다⁶⁾. 감마선은 포유류 세포에서 DNA손상을 초래하고 그에 따른 세포 성장 주기와 속도의 변화 및 그에 관련된 여러 유전자의 발현 조절, apoptosis등의 복합적인 결과를 유도한다^{11, 12)}. 방사선이 사람의 난소, 자궁, 뇌하수체, 부신, 뇌, 간 및 장관에 암을 발생시킨다는 증거는 없지만 실험동물에서는 이들 장기로부터 암 발생이 확인된 바 있다^{6, 13)}. 방사선 조사 후 인체의 변화를 관찰한 것으로서 일본의 히로시마와 나가사키의 생존자들에 대한 추적 조사 자료에 따르면 모든 solid tumors는 시간 경과에 따라 그 발생률이 증가된다고 하였다¹³⁾. 이 중 뇌를 포함한 신경계의 암 발생률은 평균치 이하로서 직장, 담낭, 췌장, 및 자궁 등보다는 높은 위험율을 나타내지만 구강 및 인후, 소화기계, 식도, 위, 대장, 간, 호흡기계, 피부, 전립선, 난소, 신장, 방광 및 갑상선등의 조직보다는 위험율이 낮게 나타났다¹³⁾. 신경계의 전방적인 암 발생 위험도는 성별 차이가 없으나 여성에게서 보다 일찍 발생하는 것으로 보고되었다¹³⁾. 조사 후 시간 경과에 따라 신경계 종양 발생률은 감소되었으며 조사시 연령이 높을수록 신경계 종양 발생률은 현저히 줄었다¹³⁾. 방사선 조사 양과 암 발생의 비례관계 조사 결과 뇌 종양에 대한 자료는 고용량의 방사선에 노출된 유일한 사례에서 neurilemmoma가 발생한 것 뿐이지만 그 외의 신경계 종양에 있어서 20세 이전에 조사된 사람들에게서 조사 양과 암 발생의 유의한 비례관계가 입증되었다¹³⁾. 자료에 따르면 뇌종양의 위험율이 현저히 높았던 경우는 태아기에 조사된 경우¹⁴⁾ 와 소아기에 방사선 암치료를 받은 경우^{15, 16)} 나 강직성 척추염의 방사선 치료 예¹⁷⁾ 와 편도선 증대로 인해 방사선 치료를 받은 경우¹⁸⁾, 두부백선의 방사선 치료예^{19, 20)}, 및 비인강의 라듐 삽입관 치료 예²¹⁾ 등과 치과나 일반 병원에서의 방사선 투과 촬영 예^{22, 23)} 등이었다. 일반적으로 중추 신경계에서 neuroblast와 neuroglia 및 뇌혈관은 방사선에 의해 손상을 크게 받는 데 반해 neuron은 방사선에 의한 손상을 적게 받는 것으로 알려져 있으며 방사선 조사시 중추 신경계의 병리 조직학적 변화는 급성 염증 반응으로 나타나며 그 이후 oligodendrocytes의 팽만과 소실 및 early demyelination이 나타나고 시간 경과에 따라 발작과 운동 실조가 나타난 이후 뇌조직 괴사와 demyelination이 발생한다고 알려져 있다⁶⁾. 동물실험시 학습 능력은 손상받지 않지만 nonintellectual behavior는 지장을 받으며 태아기에 조사시에는 학습능력도 손상되는 것으로 밝혀졌다⁶⁾. 임상에서 중추 신경계의 방사선조사에 의

한 손상은 드문 일이지만 일단 발생하면 치명적으로 나타나며 자료에 따르면 5,200 cGy이하의 조사시 뇌 조직 괴사 발생률은 1%미만이었으나 6,000 cGy까지의 조사시 4%였으며 6,000 cGy이상에서는 16%였다⁶⁾.

본 연구에서 관찰하고자 한 *jun* 유전자는 방사선에 의하여 초기에 발현이 증가되는 early response 유전자로서^{1, 3)} 핵에 있는 avian sarcoma virus 17 (ASV-17)의 암유전자로 확인되었으며 닭에서 fibrosarcoma를 유발한다²⁴⁾. *Jun* 유전자는 AP-1 전사 조절 인자를 형성하여 다른 유전자의 전사에 영향을 주게 된다^{1, 5, 24-28)}. AP-1은 최초로 SV40와 human metallothionein IIA유전자의 cis조절 부위에 위치한 enhancer배열에 특이하게 결합하는 전사 조절 인자로서 발견되었다²⁴⁾. AP-1은 TPA(12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate)와 같은 phorbol ester 종양 촉진제에 의해 세포에서 증가된다²⁴⁾. 이러한 *jun/AP-1*은 8 bp의 염기 배열(TRE: a cis element)에 결합하여 상기한 TPA 및 serum인자들에 의한 유전자 전사를 증가시키는데 동시에 *jun* promoter의 AP-1결합부위에 작용하여 전사 자극에 의한 positive autoregulation을 나타낸다²⁵⁾. *Jun* 유전자의 이러한 positive autoregulation은 signal transduction에 있어 세포외부의 자극을 세포 유전자 발현에 대한 지속적 자극으로 변환시키는 genetic switch로 작용할 것으로 보여졌다²⁵⁾. *Jun* 유전자는 광범위한 세포외부 인자에 의해 활성화되는데 그 promoter에 두 개의 TATA 유사 배열과 AP-1, CTF 및 Sp1 결합부위가 있으며 전사 시작점의 downstream으로 5'-untranslated 부위 내에 하나 이상의 AP-1 site가 있다²⁵⁾. *Jun* 유전자는 방사선 뿐만 아니라 ATP²⁹⁾, hormones, light, stress, hyperosmolar solutions, ischemia, hypoxia, seizures, cortical injury, nerve section등의 자극에 의해 전사유도된다³⁰⁾. 따라서 *Jun*유전자는 외적 자극에 매우 민감하게 반응하는 것으로 보이며 본 연구에서 1 Gy로부터 100 Gy에 이르는 범위의 코발트 60을 용량별로 전신 조사한 뒤 경과 시간별로 1시간에서 6시간까지 뇌조직에서의 *jun*유전자 발현도를 관찰한 바에 따르면 1Gy이하의 감마선에 의해 조사 후 1시간 이내에 이미 *jun*유전자 발현도가 역치 수준에 도달해 있으며 그 이상의 감마선 용량 및 경과 시간 별로의 발현도증감은 본 연구가 단일 세포가 아닌 뇌조직 전체를 대상으로 그 유전자 발현을 관찰한 까닭에 뇌조직을 구성하는 세포 별로 그 유전자의 발현 속도에 다소의 차이가 있기 때문일 것으로 본다. 그러나 사용한 코발트 60의 용량에

따라 *jun* 유전자의 최대 발현도는 동일하지 않았으며 본 연구에서는 30 Gy의 용량으로 조사 후 1시간 쯤에 *jun* 유전자의 발현도가 가장 높았다. 또한 1 Gy이하의 용량에서 1시간 이내에 한계수준에 도달했다 하더라도 그 이후의 발현도 변화를 보면 본 연구에서 사용한 감마선 용량 중 비교적 낮은 용량인 1 Gy로부터 10 Gy 범위에서는 조사 후 5시간 및 6시간 까지 점진적인 증가 양상을 나타내었으나 상대적으로 높은 용량인 20 Gy로부터 100 Gy 범위에서는 대개 조사 후 2시간 까지 증가되었다가 그 이후 감소되는 양상을 나타내었다. 이 결과는 감마선 조사 양이 높을수록 뇌조직에서의 *jun* 유전자 발현이 빨리 증가되었다가 감소되며 감마선 조사양이 낮을수록 *jun* 유전자 발현은 서서히 점진적으로 증가됨을 의미한다. 이는 감마선 조사 용량과 세포의 DNA손상 속도에 비례관계가 성립하는 결과로 추정된다. 감마선은 일종의 전리 방사선으로서 전리 방사선은 비전리 방사선에 비해 국소적인 전리를 초래하고 이에 따라 표적 생체 물질에 매우 심한 손상을 초래하게 된다³¹⁾. 전리 방사선의 특징은 가시광선이나 자외선과는 달리 특정 물질에 흡수되지 않으며 다양한 손상을 초래한다는 것인데 대부분의 손상이 초기 전리 반응의 결과로서 생긴다³¹⁾. 포유류 세포의 70%가 수분으로 되어있기 때문에 조사된 조직 세포의 손상은 방사선에 조사된 수분의 화학 반응과 밀접하다^{31, 32)}. 많은 생체 물질이 손상되지만 이들 대부분은 곧 교체되고 세포에 별 영향을 미치지 않는데 반해 DNA의 손상은 지속적이면서 세포에 영향을 미치기 때문에 전리 방사선의 조사에 따른 조직 손상은 곧 DNA손상에 기인한 것이다³¹⁾. 유전자에서 발생하는 여러가지 손상에는 염기 변이, 단일 가닥 또는 이중 가닥의 절단 및 교차 결합, 돌연변이, 유전자 일부의 손실등이 있다^{31, 32)}. 전리 방사선에 의해 초래되는 이중 가닥 절단 현상도 그 특징이 전리 방사선의 특성에 따라 틀리는 것으로 알려져 있다³³⁾. 예를 들면 알파입자나 양성자 또는 고 에너지 중성자등은 X-선이나 감마선에 비해 단위 용량 당 이중 가닥 절단에 의한 치명도가 더 크다³³⁾. 또한 방사선에 의한 DNA 손상은 그 손상이 DNA에 고정되기 전(G1/S-phase block)이나 세포 분열 전(G2-phase block)에 DNA복구 기전을 작동시키며³⁴⁾ 이들 과정은 p53에 의해 조절된다는 보고도 있다^{35, 36)}. 감마선은 전리 방사선으로서 세포 내 칼슘 농도를 증가시켜 protein kinase C를 활성화시키고 동시에 세포 주기를 조정하며³⁷⁾ 또한 reactive oxygen intermediates(ROIs) 형성에 의해 internucleosomal DNA fragmentation을 초래하고 이러한

DNA 손상에 의해 *jun* 유전자의 발현이 유도되는 것으로 알려져 있다¹⁾.

본 연구에서 *jun* 유전자와 함께 조사된 p53 유전자의 발현도는 *jun* 유전자의 경우와 일치하지는 않았으나 역시 1 Gy이하의 감마선 용량에 조사 후 1시간 이내에 한계수준에 근접하는 것으로 나타났다. p53 유전자의 감마선 용량 별 및 조사 후 경과 시간 별 발현도 변화는 사용한 감마선 용량 중 1 Gy로부터 40 Gy까지의 범위에서는 조사 후 5시간 및 6시간 까지 점진적으로 증가되는 반면 50 Gy에서 100 Gy 범위에서는 조사 후 2시간 쯤까지 증가되었다가 그 이후 감소되는 양상을 보였다. 따라서 p53 유전자 발현은 *jun* 유전자의 경우와는 달리 1 Gy부터 40 Gy 범위에 걸쳐 조사 후 5시간 및 6시간까지 서서히 증가되며 다소 신속히 증가되었다가 감소되는 양상은 50 Gy 이후부터 나타남으로써 *jun* 유전자의 경우에 비해 감마선에 대한 반응이 예민하지 못함과 동시에 감마선 조사시 세포 내 *jun* 유전자 발현에 대해 조절 기능을 갖지는 않음을 의미한다. 그러나 *jun* 유전자의 경우와 마찬가지로 사용된 코발트 60의 용량에 따라 나타난 최대 발현도는 동일하지 않았으며 본 연구에서는 1 Gy 용량의 조사 후 6시간 쯤에 p53 유전자 발현도가 최대였다.

p53은 종양 억제 유전자로서 DNA손상 시 그 전사량이 신속히 증가되는 것으로 알려져 있으나³⁸⁾ 다른 DNA손상에 반응하여 전사유도되는 유전자들과의 관계가 정립되어 있지 않다. p53 단백질은 다른 일부 유전자의 전사 조절 물질로 작용하는 것으로 보이나 *jun*, *fos* 및 MyD118 등의 유전자 전사와는 무관한 것으로 알려져 있다³⁸⁾. 본 연구의 결과도 상기한 자료와 일치하는 것으로 보인다. DNA손상 자체가 세포 내 신호 전달(예:전사 조절 물질 및 일부 암 유전자), 세포간 신호 전달(예:cytokines), 성장 조절(예:암 유전자 및 기타), 조직 손상에 대한 반응(예:collagenases), 염증 반응(예: IL-1 및 TNF), DNA 복구, 산화에 대한 반응 및 기타 방어 기전(예:metallothionein) 등의 다양한 세포내 과정과 경로에 주요한 유전자들을 활성화시키는 것을 고려할 때¹¹⁾ DNA손상의 신호 전달 경로 구명은 기존의 신호 전달 경로와 연관하여 필요한 것으로 사료된다. 이러한 노력의 결과로서 많은 DDI(DNA-Damage Inducible) 유전자들의 활성화에 관한 신호 전달 경로에서 protein kinase C(PKC)가 중추적인 역할을 하며 이 과정을 UV-response라고 하였다¹¹⁾. PKC와 관련된 유전자에는 *jun*을 비롯해서 c-fos 유전자 및 EGR1 등이 있다¹¹⁾. 이러한 DNA손상 신호 전달 경로에 의한 유전자 활성화에 관여하는 동일한 전사 조절 물

질이 경우에 따라서는 성장 촉진 인자로서 또는 성장 억제 인자로서 작용하는 과정에 대해서는 구명된 바가 없다¹¹⁾. 이것은 DNA손상에 의한 유전자 전사 조절에 대해 구체적인 이해를 위해서 조직별 특이성 및 신호 전달 경로 인자들의 복합적인 관계에 대한 연구 방향을 제시하는 것으로 생각되며 관련유전자 간의 전사량 측정 비교 뿐 아니라 신호 전달 인자의 억제제 사용과 세포내 second messenger의 측정이 필요하다. 이를 위해서는 세포 수준에서의 연구외에도 본 연구와 같은 실험 동물을 이용한 생체 실험 모델이 필수적이며 생체 내 각 장기 및 조직 별로 최적의 감마선 반응 조건을 설정하는 것이 필요하다. 그러나 단일 클론 세포 실험과는 달리 생체 조직과 같은 복합 조직에서는 감마선에 의한 유전자 발현이 일정치 못한 한계점이 있다. 이러한 한계점의 극복을 위하여 실험 동물의 품종 관리, 항시 동일한 실험 환경의 유지와 함께 생체 조직의 부위별 미세 연구 기술이 개발되어야 할 것이다.

결 론

본 연구에서는 코발트 60을 이용한 감마선을 용량 별로 흰 쥐에 전신 조사하여 조사 후 경과 시간별로 뇌조직에서 *jun* 유전자 및 *p53* 유전자의 전사도를 측정하고 이를 β -*actin* 유전자의 양에 의해 보정하였다.

1) *Jun*, *p53* 및 *Actin* 탐침의 제작 결과 1.8 Kb 와 0.8 Kb의 pGEM-2-*JUN/Eco* RI/Pst I 절편 및 2.0 Kb의 *php53B/Bam* HI 절편과 1.1 Kb의 pBluescript SK⁻-*ACTIN/Eco* RI 절편을 각 유전자에 대한 탐침으로 사용하였다.

2) Digoxigenin으로 표식화된 각 유전자 탐침에 의해 Northern 분석한 결과 *jun* 유전자의 발현도가 1 Gy에서 10 Gy의 범위에서는 조사 후 5~6시간에 증가되거나 20 Gy에서 100 Gy의 범위에서 대개 조사 후 2시간 이전에 증가되었다가 감소되는 양상을 나타내었다. *p53* 유전자의 발현도는 1 Gy에서 40 Gy의 범위에서 조사 후 5~6시간까지 점차 증가되지만 50 Gy에서 100 Gy의 범위에서는 조사 후 2시간까지 증가되었다가 그 이후 감소되는 양상을 나타내었다.

3) 본 연구에서 시행된 1 Gy로부터 100 Gy에 이르는 코발트 60 감마선 용량 범위와 조사 후 1시간에서 6시간에 이르는 경과 시간 내에서 *jun* 유전자의 최대 발현은 30 Gy 조사 후 1시간 쯤였고 *p53* 유전자의 최대 발현은 1 Gy 조사 후 6시간 쯤였다.

이상의 결과를 종합하면 감마선 조사량이 높을수록 *jun* 및 *p53* 유전자는 조사 후 짧은 경과시간 내에 최

대로 발현되었고 감마선 조사량이 낮을수록 상기한 두 유전자는 조사 후 시간 경과가 오래될수록 점진적으로 증가되었다. 그러나 *jun* 유전자와 *p53* 유전자의 감마선 조사에 따른 발현 양상에는 상호간의 연관성을 찾을 수 없었다.

REFERENCES

1. Manome Y, Datta R., Taneja N, et al. Coinduction of c-jun gene expression and internucleosomal DNA fragmentation by ionizing radiation. *Biochemistry* 1993; 32:10607-10613
2. Peter RU, Beetz A., Ried C, et al. Increased expression of the epidermal growth factor in human epidermal keratinocytes after exposure to ionizing radiation. *Radiat Res* 1993; 136:65-70
3. Martin M, Pinton P, Crechet F, Lefaix J-L, Daburon F. Preferential induction of c-fos versus c-jun protooncogene during the immediate early response of pig skin to γ -rays. *Cancer Res* 1993; 53:3246-3249
4. Langley RE, Palayoor ST, Coleman CN, Bump EA. Modifiers of radiation-induced apoptosis. *Radiation Res* 1993; 136:320-326
5. Sherman ML, Datta R, Hallahan DE, Weichselbaum RR. Ionizing radiation regulates expression of the c-jun protooncogene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:5663-5666
6. Gainer JH. Radiation, biological effects. In: *Encyclopedia of Human Biology*. Academic Press. 1991; 6:411-425
7. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162:156-159
8. Birnboim HC, Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res* 1979; 7:1513-1514
9. Ish-Horowicz D and Burke JF. Rapid and efficient cosmid cloning. *Nucleic Acids Res* 1981; 9:2989
10. Zhang H, Wheeler KT. Radiation-induced DNA damage in tumors and normal tissues I. Feasibility of estimating the hypoxic fraction. *Radiation Res* 1993; 136:77-88
11. Fornace AJ Jr. Mammalian genes induced by radiation: Activation of genes associated with growth control. *Annu Rev Genet* 1992; 26:507-526
12. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-1462
13. Rockwell S, Radiobiology In: *Encyclopedia of*

- Human Bioblogy. Academic Press 1991; 6:441-453
14. **Costa ND, Tahacker J.** Response of radiation-sensitive human cells to defined DNA breaks. *Int J Radiat Biol* 1993; 64:523-529
 15. **Wardman P.** Meeting Report: 28th Miller conference: Radiation Chemistry. *Int J Radiat Biol* 1993; 64(3):339-323
 16. **Kysela BP, Arrand JE, Michael BD.** Relative contributions of levels of initial damage and repair of double-strand breaks to the ionizing radiation-sensitive phenotype of the Chinese Hamster cell mutant, XR-V15B. Part II. Neutrons. *Int J Radiat Biol* 1993; 64:531-538
 17. **Wilson GD, Martindale CA, Soranson JA, Bourhis J, Carl UM, McNally NJ.** Radiation-induced cell cycle delay measured in two mouse tumors in vivo using bromodeoxyuridine. *Radiation Res* 1994; 137:177-185
 18. **Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, Vogelstein B, Craig RW.** Participation of P53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res* 1991; 51:6304-6311
 19. **Lane DP.** p53, guardian of the genome. *Nature* 1992; 358:15-16
 20. **Hallahan DE, Bleakman D, Virudachalam S, et al.** The role of intracellular calcium in the cellular response to ionizing radiation. *Radiation Res* 1994; 138:392-400
 21. **Thompson DE, Mabuchi K, Ron E, et al.** Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part II: Solid tumors, 1958-1987. *Radiation Res* 1994; 137:S17-S67
 22. **Bithell JF, Stewart AM.** Prenatal irradiation and childhood malignancy: a review of the British data from the Oxford survey. *Br J Cancer* 1975; 31:271-287
 23. **Albo V, Miller D, Satlok N, Hammond K.** Nine brain tumors(BT) as a late effect in children "cured" of acute lymphoblastic leukemia(ALL) from a single protocol study. *Proc A, Soc Clin Oncol* 1985; 4:172-173
 24. **Rimm IJ, Li FC, Tarbell NJ, Winston KR, Sallan SE.** Brain tumors after cranial irradiation of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 1987; 59:1506-1508
 25. **Darby SC, Doll R, Gill SK, Smith PG.** Long-term mortality after a single treatment course with X-rays in patients treated for ankylosing spondylitis. *Br J Cancer* 1987; 55:179-190
 26. **Shore-Freedman E, Abrahams C, Recant W, Schneider AB.** Neurilemmomas and salivary gland tumors of the head and neck following childhood irradiation. *Cancer* 1983; 51:2159-2163
 27. **Shore RE, Albert RE, Pasternack BS.** Follow-up study of patients treated by X-ray epilation for tinea capitis. IV. Resurvey of post-treatment illness and mortality. *Arch Environ Health* 1976; 31:21-28
 28. **Ron E, Modan B, Preston DL, Alfandary E, Stovall M, Boice JD.** Thyroid neoplasia following low-dose radiation in childhood. *Radiat Res* 1989; 120:516-531
 29. **Sandler DP, Comstock GW, Matanoski GM.** Neoplasms following childhood radium irradiation of the nasopharynx. *J Natl Cancer Inst* 1982; 68:3-8
 30. **Preston MS, Paganni HA, Henderson BE, Pike MC, Wood C.** Case-control study of intracranial meningiomas in women in Los Angeles County, California. *J Natl Cancer Inst* 1980; 65:67-73
 31. **Preston-Martin S, Mack W, Henderson BE.** Risk factors for gliomas and meningiomas in males in Los Angeles County. *Cancer Res* 1989; 49:6137-6143
 32. **Maity A, McKenna WG, Muschel RJ.** The molecular basis for cell cycle delays following ionizing radiation; a review. *Radiotherapy and Oncology* 1994; 31:1-13
 33. **Szumiel I.** Review: Ionizing radiation-induced cell death. *Int J Radiat Biol* 1994; 66(4):329-341
 34. **Vincent PC.** Apoptosis and the assessment of radiation injury. *Stem Cells* 1995; 13(suppl 1):153-164
 35. **Chen YR, Meyer CF, Tan TH.** Persistent activation of c-jun N-terminal kinase 1(JNK1) in gamma radiation-induced apoptosis. *J Biol Chem* 1996; 271(2):631-634
 36. **Levine AJ, Pervy ME, Chang A, Silver A, Dittmer D, Wu M, Welsh D.** The 1993 Walter Hubert Lecture: the role of the p53 tumor-suppressor or gene in tumorigenesis. *Br J Cancer* 1994; 69(3):409-416
 37. **Stewart BW.** Mechanisms of apoptosis: integration of genetic, biochemical and cellular indicators. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86(17):1286-1296
 38. **Lowe SW, Bodis S, McClatchey A, Remington L, Ruley HE, Fisher DE, Housman DE, Jacks T.** p53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo. *Science* 1994; 8(5):665-673
 39. **Milas L, Stephens LC, Meyn RE.** Relation of apoptosis to cancer therapy. *In Vivo* 1994; 8(5):665-673
 40. **Lee JM, Bernstein A.** Apoptosis, cancer and the p53 tumor suppressor gene. *Cancer Metastasis Rev* 1995; 14(2):149-161
 41. **McBride WH, Dougherty GJ.** Radiotherapy for

- genes that cause cancer. *Natl Med* 1995; 1(11):1215-1217
42. Prasad AV, Mohan N, Chandrasekar B, Meltz ML. Induction of transcription of " Immediate early genes" by low-dose ionizing radiation. *Radiat Res* 1995; 143(3):263-272
43. Liang CC, Guo M, Chen CH, Deloheray T. Radiation-induced apoptosis: Effects of cell age and dose fractionation. *Cancer Res* 1995; 55:5207-5212
44. Bohmann D, Bos TH, Admon A, Nishimura T, Vogt PK, Tjian R. Human Pprotooncogene c-jun encodes a DNA binding protein with structural and functional properties of transcription factor AP-1. *Science* 1987; 238:1386-1392
45. Angel P, Hattori K, Smeal T, Karin M. The jun protooncogene is positively autoregulated by its product jun/AP-1. *Cell* 1988; 55:875-885
46. Kouzarides T, Ziff E. The role of the leucine zipper in the fos-jun interaction. *Nature* 1988; 336:646-651
47. Landschulz WH, Johnson PF, McKnight SL. The leucine zipper: a hypothetical structure common to a new class of DNA binding proteins. *Science* 1988; 240:1759-1764
48. Abate C, Luk D, Gentz R, Rauscher III FJ, Curran T. Expression and purification of the leucine zipper and DNA-binding domains of fos and jun: Both fos and jun contact DNA directly. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:1032-1036
49. Zheng JS, Boluyt MO, Oneill L, Crow MT, Lakatta EG. Extracellular ATP induces immediate early gene expression but not cellular hypertrophy in neonatal cardiac myocytes. *Circulation Res* 1994; 74:1034-1041
50. Sharp FR, Sagar SM. Alteration in gene expression as an index of neuronal injury: heat shock and the immediate early gene response. *Neurotoxicology* 1994; 15:51-59

국문초록 =

감마선 조사에 의한 뇌조직의 *Jun* 및 *p53* 유전자 발현

한양대학교 의과대학 생화학교실, 치료방사선학교실*

김용석 · 우종규 · 이용성 · 고재경 · 전하정* · 이명자*

방사선은 DNA손상을 초래하고 세포 성장에 관련된 유전자의 발현 조절 및 apoptosis등을 유발한다고 알려져 있으며 본 연구는 신경계에 있어 방사선 조사 후 종양 발생율과 시간 경과와 관계 및 조사 양과 암 발생의 관계를 구명하기 위해 코발트 60의 전신조사에 따른 흰쥐 뇌 조직의 생체 반응을 연구하고자 하였다. 이를 위하여 상기조직의 *jun* 및 *p53* 유전자의 발현도를 1 Gy로부터 100 Gy 범위의 감마선 용량별 및 1시간에서 6시간까지의 조사 후 경과 시간 별로 Northern 분석하였다. *Jun*유전자 발현도는 1Gy이하에서 1시간 이내에 한계수준에 도달하였으며 30 Gy의 조사 1시간 째에 최대였다. 또한 조사 1시간 이후 1 Gy로부터 10 Gy 범위에서는 조사 5시간 및 6시간까지 점진적으로 증가되었으나 20 Gy로부터 100 Gy 범위에서는 조사 2시간까지 증가 후 감소되는 양상을 나타냈다.

*p53*유전자의 발현도는 1 Gy이하에서 1시간 이내에 한계 수준에 근접했고 1 Gy 의 조사 후 6 시간 째에 최대였다. 1 Gy로부터 40 Gy까지의 범위에서는 조사 5시간 및 6시간까지 점진적으로 증가되는 반면 50 Gy에서 100 Gy범위에서는 조사 2시간 째까지 증가 후 감소되는 양상을 보였다. 따라서 감마선 조사량이 높을수록 *jun* 및 *p53*유전자는 신속하게 최대로 발현되었고 감마선 조사량이 낮을수록 서서히 증가되었다. 그러나 *jun*유전자와 *p53*유전자의 감마선 조사에 따른 발현 양상에는 상호간의 연관성을 찾을 수 없었다.