

## MC50 사이클로트론에서 생성되는 중성자선의 생물학적 특성의 평가

서울대학교 의과대학 방사선종양학교실\*, 서울대학교 의학연구원 방사선의학연구소<sup>†</sup>,  
서울대학교 의과대학 암연구소<sup>‡</sup>, 원자력의학원 방사선종양학과<sup>§</sup>, 중앙대학교 의과대학 방사선종양학교실<sup>||</sup>

엄근용\* · 우홍균\*<sup>† ‡</sup> · 박혜진\* · 허순녕\* · 예성준\*<sup>†</sup> · 이동한<sup>§</sup> · 박석원<sup>||</sup>

**목 적:** 원자력의학원에 설치되어 있는 MC50 사이클로트론에서 생성되는 중성자선의 의학적 이용을 위하여 생물학적 특성을 평가하고자 하였다.

**대상 및 방법:** 35 MeV 양성자를 15 mm 베릴륨 표적에 부딪혀서 생성된 중성자선에 대하여 물리적 방사선선량을 측정 후 체외실험(in-vitro)을 하였다. EMT-6 세포주(cell line)를 이용하여 0~5 Gy의 중성자선을 조사 후 생존분획(surviving fraction)을 구하였다. 또한 감마선의 효과를 피하기 위하여 납차폐를 한 후에 동일 조건에서 생존분획을 구하였다. 엑스선 실험에서는 0, 2, 5, 10, 15 Gy를 조사 후 생존분획을 측정하였다.

**결 과:** MC50의 중성자선은 조사야 26×26 cm<sup>2</sup>, 전류 10 μA, 깊이 2 cm에서 84%의 중성자와 16%의 감마선으로 구성되어 있었고, 총선량률은 9.25 cGy/min이었다. 엑스선을 이용하여 측정한 생존분획곡선은 선형이차함수모델(linear quadratic model)을 적용하였을 때 α/β비는 0.611 (α=0.0204, β=0.0334, R<sup>2</sup>=0.999)이었다. 중성자선에 있어서 생존분획곡선은 저선량 영역에서 어깨영역(shoulder area)을 가지고 있었고, 모든 실험에서 선형이차함수모델에 잘 맞았다. α의 평균값은 -0.315 (범위, -0.254~-0.360)였고, β값은 0.247 (범위, 0.220~0.262)이었다. 납차폐를 하였을 때에도 생존분획곡선에서 어깨영역은 없어지지 않았다. 중성자선의 RBE (relative biological effectiveness) 값은 생존분획이 0.1일 때 2.07~2.19 범위였고, 0.01일 때 2.21~2.35였다.

**결 론:** MC50에서 생성된 중성자선은 상당량의 감마선을 내포하고 있으며 이것이 생존분획곡선에서 어깨영역이 나타나는 데에 기여하였을 것이다. MC50의 중성자선의 RBE 값은 약 2.2였다.

**핵심용어:** 사이클로트론, 중성자선, 상대적 생물학적 효과비, 방사선치료

### 서 론

저산소 환경에서의 종양은 정상산소 환경에 비하여 엑스선에 내성을 나타낸다. 따라서 이를 극복하는 방안으로써 고LET방사선을 이용한 방사선치료에 대한 관심이 높아지고 있다. 고속중성자(fast neutron)는 1930년대부터 암의 치료에 이용되어 왔으며, 고속중성자가 일부 암에 있어서 광자(photon)보다 더욱 효과적이라는 실험결과<sup>1,2)</sup>가 제시되었다. 이후에 중성자에 의한 DNA 손상이 광자에 의한 DNA 손상보다 복구하기 어렵다는 실험결과<sup>3)</sup> 및 세포사(cell kill-

ing)에 있어서 광자에 비하여 세포주기에도 덜 영향을 받는다는 실험결과<sup>4)</sup>가 제시되었다.

이러한 이론적 배경을 바탕으로 고에너지 중성자선을 종양의 치료에 이용하기 위하여 전세계적으로 연구가 진행되었으나, 중성자선의 물리적 특성으로 인한 스펙트럼 측정의 어려움, 생물학적 특성에 대한 연구결과의 부족 등으로 인하여 현재 침체에 빠져있다. 국내에서 중성자선은 1960년 이래로 방사선생물학, 방사선 치료 및 재료시험연구 등에 이용되었으며, 1986년부터 원자력병원에서 중성자 치료가 시행되었다.<sup>5,6)</sup> 그러나 최근에는 하드웨어적인 문제 및 이로 인한 생물학적 이득의 결여로 인하여 중성자선이 주로 동위원소 생산 및 재료물성 연구를 위한 용도로 국한되어 이용되고 있다.

따라서 본 연구에서는 중성자선의 의학적 이용을 위한 기반확충의 한 가지로 원자력의학원 사이클로트론에서 발생하는 최대 에너지 35 MeV의 속중성자(fast neutron)에 대

이 논문은 2006년 11월 14일 접수하여 2006년 12월 12일 채택되었음.  
본 연구는 2006년도 과학기술부 원자력연구기반확충사업 연구비 800-20060131의 지원으로 이루어진 것임.

책임저자: 우홍균, 서울대학교 의과대학 방사선종양학교실  
Tel: 02)2072-3177, Fax: 02)765-3317  
E-mail: wuhg@snu.ac.kr

하여 생물학적 특성을 파악하고자 하였다. 본 실험에서는 마우스 세포주(cell line)를 이용하여 생존분획곡선(surviving fraction curve)을 측정하고 RBE (relative biological effectiveness) 값을 구하여 향후 동물모델을 이용한 체내(in-vivo)실험의 기반이 되는 데이터를 얻고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 세포배양 및 집락의 측정

Balb/c 마우스의 유선암에서 유래한 EMT-6 세포주는 원자력의학원에서 제공받아 사용하였다. 세포주는 15% FBS 이 함유된 DMEM (Dulbecco Modified Essential Medium, Gibco BRL, USA) 5 mL에 파종(seeding)하여 배양하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건에서 배양하였다. 세포를 수확하기 위하여 배양액을 제거 후 PBS (phosphate buffered saline solution)로 2회 세척하여 0.25% 트립신(trypsin)으로 1~2분간 처리하였다. 배양액을 더하여 세포를 15 mL 튜브에 모은 후 원심분리기(centrifuge)에서 1,500 rpm으로 5분간 원심분리하였으며 그후 상층액을 제거하고 1 mL의 배양액을 넣어서 세포 부유액(suspension)을 만들었다. 살아있는 세포를 확인하기 위하여 typan blue 방법을 사용하였고, 혈구계(Hemocytometer)를 이용하여 세포의 개수를 측정하였다. 이후 적정배수로 희석하여 각 선량별로 집락(colony)의 수가 50~100개 정도 생성되도록 T25 플라스크에 파종하였다. 방사선 조사 후에는 10~14일간 세포배양기에서 배양하였다. 세포를 고정하기 위하여 배양액을 제거 후 차가운 100% 메탄올로 10분간 처리하고 고정된 세포를 0.5% 크리스탈바이올렛(crystal violet)으로 10분간 염색 후에, 50개 이상의 세포로 형성된 세포집락의 수를 계측하였다.

### 2. 중성자선 및 엑스선 조사

원자력의학원의 MC50 싸이클로트론으로 35 MeV의 양성자를 15 mm 두께의 베릴륨(Beryllium) 표적에 부딪혀서 생성된 중성자선을 이용하여 실험을 진행하였다. 고속중성자 및 감마선량 측정을 위해 두 이온 전리함(paired ionization chambers)에 의한 선량 측정법<sup>7)</sup>을 이용하였다.

세포파종 후 24시간 후에 중성자 0~5 Gy를 조사하였다. 중성자선 조사 시의 운전조건은 다음과 같았다. 선원에서 표면까지 거리(SSD, source to surface distance)는 150 cm, 조사야의 크기는 26×26 cm<sup>2</sup>, 전류는 20 μA으로 하였으며 두께는 2 cm였다. 또한 3 mm 납을 이용하여 차폐를 한 후 동일 조건에서 실험을 반복하였다.

엑스선 실험의 경우 4 MV 선형가속기를 이용하여 SSD

100 cm, 조사야의 크기 40×40 cm<sup>2</sup>, 선량률 240 cGy/min으로 0, 2, 5, 10, 15 Gy를 각각 조사하여 생존분획곡선을 얻었다.

모든 실험은 같은 실험을 3회 이상 반복하여 평균치를 구하여 분석하였다.

### 3. 분석방법

대조군(0 Gy)에서 얻은 배양효율(plating efficiency, PE)을 기준으로 각 실험군의 생존분획(surviving fraction, SF)을 산출하였다. 데이터 값은 일차적으로 선형이차함수모델(linear-quadratic model)에 맞추어 분석하였다. 통계방법으로는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 이용하였다.

## 결 과

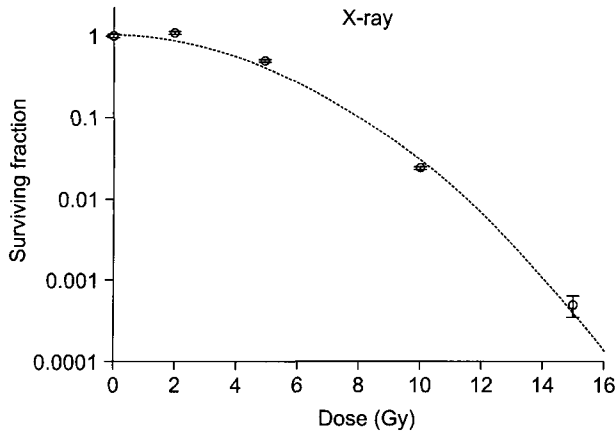
MC50 싸이클로트론에서 발생한 중성자선의 흡수선량률은 에너지 35 MeV, 조사야 26×26 cm<sup>2</sup>, 전류 10 μA일 때 Table 1과 같았다. 깊이 2 cm에서 중성자선량은 7.78 cGy/min로 전체선량(9.25 cGy/min)의 84%였고, 감마선량은 1.47 cGy/min로 전체선량의 16%였다.

엑스선으로 측정된 EMT-6 세포주의 생존분획곡선은 Fig. 1과 같았다. 선형이차함수모델을 적용하였을 때 α/β 비는 0.611 (α=0.0204, β=0.0334, R<sup>2</sup>=0.999)로 모델에 잘 맞았다. D<sub>0</sub> 및 D<sub>1</sub>의 값은 각각 1.631 및 5.159였다. Fig. 1은 엑스선에서 방사선량에 따른 EMT-6 세포주의 생존분획곡선을 도시하였다.

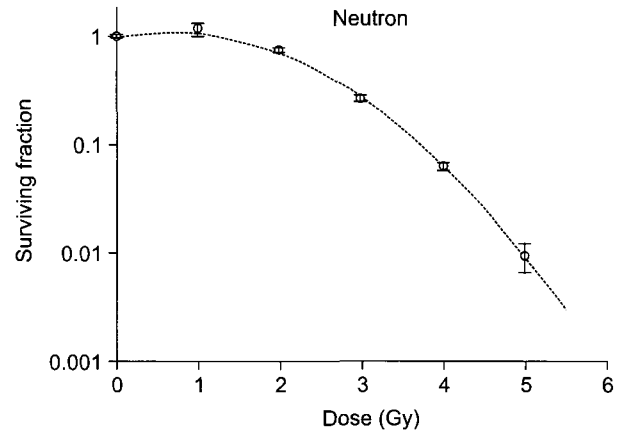
중성자선의 경우 총방사선량 0, 1, 2, 5, 10 Gy에 대하여 생존분획곡선을 구하였을 때 6,000개의 세포를 파종한 10 Gy에서는 살아있는 세포가 없었다. 생존분획곡선은 저선량영역에서 어깨영역(shoulder area)이 나타났으며, 선형이차함수모델로 관측치가 잘 설명되었다. 이를 바탕으로 총방사선량을 0~5 Gy로 하여 3회 반복 실험하였을 때 α값의 평균은 -0.315 (범위, -0.254~-0.360)였고, β값의 평균은 0.247 (범위, 0.220~0.262)였다. D<sub>0</sub> 및 D<sub>1</sub>의 값의 평균

Table 1. Absorbed Dose Profile of Neutron Beams Generated by MC50 Cyclotron (SSD=150 cm, Field Size=26×26 cm, Current=10 μA)

Depth (mm)	Total dose (cGy/min)	Neutron (cGy/min)	Gamma ray (cGy/min)
15	9.36	7.94	1.42
20	9.25	7.78	1.47
30	8.69	7.12	1.57



**Fig. 1.** Clonogenic cell survival of EMT-6 cell lines were generated after their exposure to 0, 2, 5, 10, 15 Gy of x-ray (SSD=100 cm, field size=40×40 cm<sup>2</sup>, dose rate=240 cGy/min). The data represent the mean and SE for three independent experiments.



**Fig. 2.** Clonogenic cell survival of EMT-6 cell lines were generated after their exposure to 0, 1, 2, 3, 4, 5 Gy of neutron beams (SSD=150 cm, field size=26×26 cm<sup>2</sup>, current=20 μA). The data represent the mean and SE for three independent experiments.

은 각각 0.5906 (범위, 0.5719~0.6271) 및 2.742 (범위, 2.678~2.776)였다. 각 선량에 대하여 그래프를 그리면 Fig. 2와 같았다.

MC50 싸이클로트론에서 생성된 중성자선의 감마선 오염을 줄이기 위하여 3 mm 납차폐를 시행하였을 때 EMT-6 세포주의 생존분획곡선은 차폐를 하지 않은 것과 비교하여 세포의 생존분획은 통계적인 차이(p=0.044)를 보였으나 어깨영역은 없어지지 않았다.

중성자선의 RBE 값은 생존분획이 0.1과 0.01일 때 평균 값은 각각 2.130 (범위, 2.07~2.19), 2.29 (범위, 2.21~2.35)였다.

### 고안 및 결론

일반적으로 중성자를 조사한 세포의 생존분획곡선은 생존분획을 로그형식으로 표시할 경우 일반적으로 방사선량에 비례하여 직선의 형태로 나타난다. 이러한 결과는 준치사손상회복(sublethal damage repair)이 결여되었거나 또는 적은 양으로 일어나기 때문이다.<sup>8-10)</sup> 그러나 본 실험에서 세포의 생존분획곡선은 엑스선에서와 같이 선형이차함수 모델에 적합하였고, 저선량 영역에서 어깨영역이 나타났다.

이러한 실험결과의 이유로는 MC50 싸이클로트론에서 생성된 중성자선의 감마선 오염을 생각해 볼 수 있다. 이온함(ion chamber)을 이용하여 MC50 싸이클로트론에서 발생된 중성자선의 흡수선량 및 선량깊이곡선을 측정하였을 때, 실험방법에서 기술한 조건에서 중성자의 선량기여분은 전체의 84%였고, 감마선량은 16%였다. 감마선의 발생에는

치료기 표적핵(target) 시스템에서 중성자 발생 시에 수반된 감마선, 차폐체 내에서 생성된 감마선 등 여러 원인이 관여하는데, 동일한 싸이클로트론을 이용한 앞선 연구<sup>10)</sup>에 의하면, 34.4 MeV의 중성자선을 70 cm 파라핀블록으로 감쇠하였을 때 중성자선은 파라핀을 통과하여 충분히 감쇠가 되었지만 감마선은 파라핀에 의해 크게 감쇠가 되지 않았다. 본 실험에서는 감마선에 의한 영향을 줄이고자 100 keV 이하의 감마선을 대부분 차단할 수 있도록 3 mm 납차폐를 하였으나 어깨 영역이 사라지지 않았다. 따라서 이를 미루어볼 때 MC50 싸이클로트론에서 생성된 중성자선에는 100 keV 이상의 에너지를 갖는 감마선이 주를 이룰 것으로 생각된다.

다른 가능성으로는 실험에 이용한 세포주의 자체의 특성을 고려할 수 있다. 여러 가지 세포주를 이용한 실험들<sup>8-10)</sup>에서는 준치사손상회복이 결여되었거나 미미하여 세포생존 곡선이 직선으로 표현되었으나, EMT-6 세포주를 이용한 실험<sup>12)</sup>에서는 작게나마 엑스선에서와 같이 0~300 rad의 영역에서 어깨영역을 발견할 수 있었다. 또한 human epithelioid P3 cell을 이용하여 감마선과 중성자선을 조사 후 DNA 이중나선구조의 파괴의 수복률(repair rate)을 조사한 결과<sup>13)</sup>를 보면 중성자 조사 후에 일정부분에서 이중나선 구조의 수복이 일어나는 것을 알 수 있다. 따라서 어깨영역이 나타나지 않는 현상은 일반적인 현상이기보다는 세포주에 특이적인 현상일 가능성이 있다. 세포주에 따른 특이적 반응을 나타내는 다른 예로 엑스선을 조사하였을 때에도 일부 세포주에서는 준치사손상회복을 나타내지 않는 경우도 있다.<sup>14)</sup> 본 실험에서 나타난 어깨 영역은 EMT-6

세포주 자체의 특성이 중성자선의 감마선 오염으로 인하여 더욱 과장되어 나타난 것으로 생각된다.

본 실험에서 RBE 값은 2.1~2.2의 영역에 있었다. 이러한 결과는 이전에 나온 결과들과 잘 합치한다.<sup>15~18)</sup> 그러나 RBE 값은 세포주의 개별 특성 및 세포가 처한 환경, 중성자의 에너지 등에 따라서 각기 다른 값을 가질 수 있다. Britten 등<sup>19)</sup>의 연구에 따르면 다양한 인간 세포주(human cell line)를 대상으로 실험을 하였을 때, 광자에 저항성을 나타내는 세포주에 있어서 중성자에 대한 명백한 RBE의 증가 또는 감소가 없었으며, 산소상태에 따라서도 RBE 값에 차이가 나타났다. 또한 여러 연구에 중성자선의 에너지 스펙트럼에 따라서 RBE 값이 변한다는 사실<sup>15~18)</sup>이 잘 알려져 있다. 따라서 본 실험의 RBE 값은 실험 방법에서 기술한 조건하에서 EMT-6 세포주에 한하여 해당하는 사항일 것이다.

### 참 고 문 헌

- Schmitt G, Wambersie A. Review of the clinical results of fast neutron therapy. *Radiother Oncol* 1990;17:47-56
- Wambersie A. Fast neutron therapy at the end of 1988 - a survey of the clinical data. *Strahlenther Onkol* 1990;166:52-60
- Peak MJ, Wang L, Hill CK, Peak JG. Comparison of repair of DNA double-strand breaks caused by neutron or gamma radiation in cultured human cells. *Int J Radiat Biol* 1991;60:891-898
- Chapman JD. Biophysical models of mammalian cell inactivation by radiation. In: Meyn RE, Withers HR, eds. *Radiation Biology in Cancer Research*. New York: Raven Press, 1980: 21-32
- Chai JS, An DH, Chang HS, et al. Operation Experience of MC50 cyclotron, KIRAMS. *Proceedings of APAC 2004*, Gyeongju, Korea, 67-69
- Yoo SY, Noh SW, Chung HW, et al. Dosimetric characteristics of the KCCH neutron therapy facility. *J Korean Soc Ther Radiol Oncol* 1988;6:85-91
- Lee DH, Seo SH, Ji YH, et al. Characteristics of radiation generated by BNCT irradiator of Hanaro nuclear reactor. *J Korean Soc Radiol Oncol* 2006;24:s158
- Gragg RL, Humphrey RM, Meyn RE. The response of Chinese hamster ovary cells to fast neutron radiotherapy beams-II. Sublethal and potentially lethal damage recovery capabilities. *Radiat Res* 1977;71:461-470
- Hall EJ, Kraljevic U. Repair of potentially lethal radiation damage: comparison of neutron and X-ray RBE and implications for radiation therapy. *Radiology* 1976;121:731-735
- Raju MR, Frank JP, Bain E, Trujillo TT, Tobey RA. Repair of potentially lethal damage in CHO cells by X- and  $\gamma$ -irradiation. *Radiat Res* 1977;71:614-621
- Lee DH, Ji YH, Park HJ, et al. Dosimetry of the low fluence fast neutron beams for boron neutron capture therapy. *J Korean Soc Ther Radiol Oncol* 2001;19:66-73
- Rasey JS, Nelson NJ, Carpenter RE. Recovery from potentially lethal damage following irradiation with X-rays or cyclotron neutrons. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1978;4: 1023-1027
- Peak MJ, Wang L, Hill CK, Peak JG. Comparison of repair of DNA double-strand breaks caused by neutron or gamma radiation in cultured human cells. *Int J Radiat Biol* 1991;60:891-898
- Hetzel FW, Kruuv J, Frey HE. Repair of potentially lethal damage in X-irradiated V79 cells. *Radiat Res* 1978;68:308-319
- Broerse JJ, Engels AC, Lelieveld P, et al. The survival of colony-forming units in mouse bone-marrow after in vivo irradiation with D-T neutrons, X- and gamma-radiation. *Int J Radiat Biol* 1971;19:101-110
- Railton R, Lawson RC, Porter D, Hannan WJ. Neutron spectrum dependence of RBE and OER values. *Int J Radiat Biol* 1973;23:509-518
- Guelette J, Beauduin M, Gregoire V, et al. RBE variation between fast neutron beams as a function of energy. Inter-comparison involving 7 neutrontherapy facilities. *Bull Cancer Radiother* 1996;83 suppl:55s-63s
- Edwards AA. Neutron RBE values and their relationship to judgements in radiological protection. *J Radiol Prot* 1999;19: 92-105.
- Britten RA, Peters LJ, Murray D. Biological factors influencing the RBE of neutrons: implications of their past, present and future use in radiotherapy. *Radiat Res* 2001;156:125-135

---

**Abstract**

---

## **Evaluation of Biological Characteristics of Neutron Beam Generated from MC50 Cyclotron**

Keun-Yong Eom, M.D.\*, Hong-Gyun Wu, M.D., Ph.D.\*<sup>††</sup>, Hye Jin Park\*, Soon Nyung Huh, Ph.D.\*,  
Sung-Joon Ye, Ph.D.\*<sup>†</sup>, Dong Han Lee, Ph.D.<sup>§</sup> and Suk Won Park, M.D.<sup>||</sup>

\*Department of Radiation Oncology, Seoul National University College of Medicine,

<sup>†</sup>Institute of Radiation Medicine, Medical Research Center, Seoul National University,

<sup>††</sup>Cancer Research Institute, Seoul National University College of Medicine,

<sup>§</sup>Department of Radiation Oncology, The Korea Institute of Radiological and Medical Sciences

<sup>||</sup>Department of Radiation Oncology, Chung-Ang University College of Korea

**Purpose:** To evaluate biological characteristics of neutron beam generated by MC50 cyclotron located in the Korea Institute of Radiological and Medical Sciences (KIRAMS).

**Materials and Methods:** The neutron beams generated with 15 mm Beryllium target hit by 35 MeV proton beam was used and dosimetry data was measured before in-vitro study. We irradiated 0, 1, 2, 3, 4 and 5 Gy of neutron beam to EMT-6 cell line and surviving fraction (SF) was measured. The SF curve was also examined at the same dose when applying lead shielding to avoid gamma ray component. In the X-ray experiment, SF curve was obtained after irradiation of 0, 2, 5, 10, and 15 Gy.

**Results:** The neutron beams have 84% of neutron and 16% of gamma component at the depth of 2 cm with the field size of  $26 \times 26$  cm<sup>2</sup>, beam current 20  $\mu$ A, and dose rate of 9.25 cGy/min. The SF curve from X-ray, when fitted to linear-quadratic (LQ) model, had 0.611 as  $\alpha/\beta$  ratio ( $\alpha=0.0204$ ,  $\beta=0.0334$ ,  $R^2=0.999$ , respectively). The SF curve from neutron beam had shoulders at low dose area and fitted well to LQ model with the value of  $R^2$  exceeding 0.99 in all experiments. The mean value of alpha and beta were  $-0.315$  (range,  $-0.254 \sim -0.360$ ) and  $0.247$  ( $0.220 \sim 0.262$ ), respectively. The addition of lead shielding resulted in no straightening of SF curve and shoulders in low dose area still existed. The RBE of neutron beam was in range of  $2.07 \sim 2.19$  with SF=0.1 and  $2.21 \sim 2.35$  with SF=0.01, respectively.

**Conclusion:** The neutron beam from MC50 cyclotron has significant amount of gamma component and this may have contributed to form the shoulder of survival curve. The RBE of neutron beam generated by MC50 was about 2.2.

---

**Key Words:** Cyclotron, Neutron, RBE, Radiation therapy