

저, 고선량률 방사선 조사된 AKR/J 마우스의 흉선암 조절에 관여하는 세포고사 관련 유전자 분석 연구

신 석 철 · 최 무 현 · 봉 진 중 · 강 유 미 · 방 현 순 · 최 승 진 · 김 희 선*
한국수력원자력(주) 방사선보건연구원
*E-mail: hskimdvm@khnp.co.kr

중심어 : 저, 고선량률 방사선 조사, 세포고사, 흉선암, AKR/J 생쥐

서 론

세포고사는 손상되거나 돌연변이된 세포를 제거하여 우리 몸의 항상성을 유지하는 근본적인 반응이며 외부환경 및 체내 외 변화에 의해 다양한 기전과 신호전달을 통해 활성화되거나 조절된다.

고선량률 방사선은 정상세포의 세포고사를 유발하며 정상 세포를 암 세포로 변형시키고 면역 기능을 손상시켜 유전자가 손상된 세포를 제거하지 못하여 암 발생을 야기한다. 반면, 저선량률 방사선은 세포고사 기전을 통해 암세포를 제거한다는 보고가 있으며 0.2 Gy 미만의 저선량 방사선은 면역기능의 증가, 질병의 예방과 치료, 수명 증가에 영향을 준다. 또한, 우리는 이전 연구를 통해 저선량률 방사선 조사된 AKR/J 마우스 (자연발생 흉선암 모델)에서 흉선암 발병 감소와 수명연장 현상을 보고하였다.

본 연구에서는 저선량률 방사선에 노출된 AKR/J 마우스의 흉선암 감소에 apoptosis 관련 유전자의 발현 양상이 어떠한 영향을 미치는지를 확인하고자 하였다. 이를 위해 방사선 비조사군, 조사군 마우스에서 발생된 흉선암의 총 RNA를 이용하여 whole genome microarray를 실시하고 이들 중 apoptosis 관련 유전자의 조절 기전을 분석하였다.

laboratory 센터로부터 구입하여 SPF (Specific-pathogen-free) 시설에서 사육하였다. 사육환경은 온도 23 ± 3 °C, 습도 50 ± 10 %, 12시간 광주기 (200 - 300 lux; 08:00 am - 08:00 pm) 상태를 유지하였다. 그룹 당 5마리로 구분하고 동일무게의 마우스를 사용하여 실험을 수행하였다.

방사선조사

모든 AKR/J 마우스는 총 4.5 Gy 방사선량이 되도록 저선량 방사선 조사시설 (^{137}Cs , 0.7mGy/h)에서 장기 조사하거나 고선량 방사선 조사기 (^{137}Cs , 0.8 Gy/min)에서 단일 조사하였다. 비 조사군은 동일 환경에서 사육하였다. 각 조사군은 30마리로 구성하였으며 총 세 번 반복 수행하였다.

Whole genome microarray analysis

방사선 조사 마우스 흉선을 채취하고 agilent oligo microarray chip (44K)을 사용하여 whole genome microarray를 수행하였다. 모든 칩은 GenePix 4000B scanner (Axon Instruments, San Diego, CA) 를 사용하여 scan 하였으며 image 분석은 GenePix v6.0 software 사용하여 spot intensity를 측정하였다. Raw data는 median normalization method를 사용하여 normalization 하였다.

실험재료 및 방법

실험동물

AKR/J 마우스는 7 주령 암컷으로 일본 Shizuoka

결과 및 고찰

저선량률 조사된 AKR/J 마우스의 생존율 증가 및 흉선암 발병 감소

저선량률 방사선 조사된 AKR/J 마우스의 생존율은

비 조사군과 고선량률 방사선 조사군에 비해 가장 높게 관찰되었다. 마우스 생존율과 마찬가지로 흉선암 발병도 저선량률 방사선 조사된 AKR/J 마우스가 비 조사군과 고선량률 조사군에 비해 가장 낮게 확인 되었다 (Fig 1).

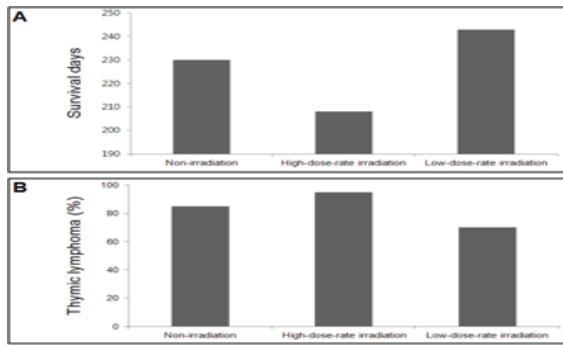


Figure 1. Mean survival days and thymic lymphoma incidence.

저, 고선량률 조사된 AKR/J 마우스에서 세포고사 관련 유전자 발현 차이 확인

비 조사군 대비 고선량률 및 저선량률 방사선 조사군의 유전자 분석 결과 총 402개의 세포고사 관련 유전자가 관찰되었다. 고선량률 방사선 조사군에서는 158개 유전자 (2 fold-up : 19개)가 고발현 되었으며, 244개 유전자 (2 fold-down : 35개)가 저발현 되었다.

저선량률 방사선 조사군에서는 279개 유전자 (2 fold-up : 10개)가 고발현 되었으며 123개 유전자 (2 fold-down : 3개)가 저발현 되었다 (Table 1).

Table 1. Numbers of changed apoptosis related gene in irradiated AKR/J mice. ^a:2 fold up-regulated genes; ^b:2 fold down-regulated genes

	HDR (0.8 Gy/min)	LDR (0.7 mGy/h)
Up	158(19) ^a	279(10) ^a
Down	244(35) ^b	123(3) ^b

이들 유전자 중, 저, 고선량률 방사선 조사군에서 가장 반대적으로 발현되는 유전자는 Myc 유전자의 기능적 억제자인 Cul7 이었다. 저선량률 방사선 조사된 마우스에서는 caspase cascade apoptosis pathway에 속해있는 casp9, casp3 유전자가 고발현 되었고, 고선량률 방사선 조사된 마우스에서는 cell cycle

regulation을 조절하는 Myc과 E2F2 유전자가 저발현 되었다. 또한 Casp9을 음성적으로 조절하는 Birc2 유전자가 고발현 되었으며, caspase cascade apoptosis pathway에 속해있는 Casp9, Casp6, Casp7과 Apaf1 유전자가 저발현 되었다 (Table 2).

Table 2. The fold increase in the expression of apoptosis related gene in the high- versus low-dose-rate irradiated AKR/J mice.

Genes	GenBank Acc No.	HDR	LDR
Dedd2	AK010701	0.9	2.2
Wwox	AK013927	0.0	1.5
Mbd4	AK020623	0.2	1.2
Birc2	NM_007465	2.0	1.2
Casp2	NM_007610	0.5	1.0
Casp7	NM_007611	0.7	1.0
Gpx1	NM_008160	1.5	2.1
Apaf1	NM_009684	0.5	0.8
Cd5l	NM_009690	2.5	4.0
Casp12	NM_009808	2.1	1.1
Casp3	NM_009810	0.9	1.3
Casp6	NM_009811	0.8	1.4
Ltbr	NM_010736	0.8	2.2
Myc	NM_010849	0.7	1.3
Casp9	NM_015733	0.9	1.1
Cul7	NM_025611	3.0	0.2
Ptdsr	NM_033398	0.6	2.5
E2f2	NM_177733	0.4	0.9
Elmo2	NM_207705	0.3	1.3

결론

위 결과를 통해 흉선암이 발병하고 있는 AKR/J 마우스에 각기 다른 방사선률로 조사할 경우 고선량률 방사선 조사는 암 발생을 촉진시키는 반면 저선량률 방사선 조사는 암 발생을 억제하는 것을 확인하였다 (Fig 1).

이와 같은 현상은 유전자 분석 결과, 고선량률 방사선 환경은 발암억제 유전자와 세포고사 유도 유전자의 발현을 감소시켜 흉선암 세포를 제거하지 못하고 저선량률 방사선은 마우스 신체내의 세포고사 관련 유전자 발현을 증가시켜 암 세포들을 제거하는 것으로 사료된다.