

Reduced Glutathione 및 寒冷露出이 X線 全身照射를 입은 마우스 數種臟器의 蛋白量에 미치는 影響

〈指導 禹 朱 元 亨 恩 教授〉

朴 福 煥* · 徐 修 之*

李 東 一** · 金 榮 基**

—Abstract—

Effects of Reduced Glutathione and Cold Exposure on the Levels of Protein in Some Organs of the Mouse

Bok Hwan Park, * M.D., Soo Jhi Suh, * M.D.,
Dong Il Lee, **M.D. and Young Ki Kim, **M.D.

(Directed by: Prof. Won Hyung Woo and Prof. Young Eun Choo)

*Departments of Radiology and Physiology, Kyungpook National University
School of Medicine, Taegu, Korea*

In an attempt to observe the possible radioprotective actions of single or combined application of reduced glutathione(GSH) and cold exposure in mammals, the albino mouse was subjected to GSH injection, cold exposure at $-1 \pm 0.2^\circ\text{C}$ and whole-body X-irradiation with 900R either singularly or in combination, or the X-irradiation following the cold exposure and/or GSH injection. The level of protein of the liver, brain and heart was measured at one hour after each application, and the results were compared with the control, i.e., non-irradiated and non-cold exposed normal animal. Protein was measured by the method described by Lowry et al., using Folin-Ciocalteu phenol reagent.

The results thus obtained are summarized as follows:

- 1) The level of protein in the liver, brain and heart of the normal mouse was 101.13, 62.75 and 87.08 mg/gm wet wt., respectively.
- 2) The protein levels of all the organs studied were elevated by the X-irradiation, but decreased protein levels were observed when GSH was given.
- 3) In the group where the cold exposure was applied, and the X-irradiation was combined with the cold exposure, the protein levels of the organs were similar to the normal value or slightly decreased.
- 4) When GSH, X-irradiation and cold-exposure were combined, the protein levels of all the organs studied were decreased comparing with the normal.

緒 論

生物體에 있어서 新陳代謝가 活潑할수록 放射線에 對

한 損傷의 程度가 甚하게 나타나고, 反面에 代謝活動이 低下되었거나 細胞內의 酸素交換이 減少될수록 放射線에 依한 損傷을 적게 받을 것이라는 것은 周知의 事實이다.

生體로부터 放射線에 依한 損傷을 적게하거나, 나아

* 慶北醫科大學 放射線科學教室

Dept. of Radiology.

** 慶北醫科大學 生理學教室

Dept. of Physiology.

가서 放射線에 依한 障礙로 부터 生體의 保護如否를 究明할 目的으로 動物을 寒冷에 露出시킨 後, 或은 寒冷露出途中에 放射線을 照射하거나, 또는 照射後에 寒冷露出하는 方法이 1939年 Cook¹⁾에 依해서 처음 試圖되었으며, 그後 많은 研究者들²⁻⁸⁾에 依해서 報告된 바가 있다.

이와같은 實驗들은 動物의 體溫을 低下시킴으로써 代謝過程을 抑制하고, 이때에 放射線을 照射함으로써 放射線이 目標分子에 미치는 直接損傷을 적게할수 있다는 事實은 곧 致死量 放射線의 直接影響에 對해서 寒冷露出이 一種의 保護作用을 나타낼수 있음을 示唆해 준다.

이와는 달리 Houtermans⁹⁾, Kimeldorf 및 Newson¹⁰⁾ 및 Kuskin^等¹¹⁾에 依하면 寒冷露出으로써 放射線에 對한 保護作用이 同一하지 않고, 寒冷露出方法 및 X-線照射量에 따라 나타나는 保護作用의 樣相이 多樣하고, 差異가 있다고 한다.

이로써 미루어 볼때 寒冷에 依한 X-線損傷에 對한 保護作用은 아직도 分明하지 못한 點이 許多하다고 할수 있고, 더우기 大部分의 報告가 生存期間을 基準으로 하여 調査한 것으로 미루어 보아 더욱 詳細한 研究가 期待된다.

한편 Bacq 및 Alexander에 依하면 放射線損傷으로부터 生體를 化學적으로 保護할수 있는 物質中, 特히 glutathione은 glutamic acid, cysteine 및 glycine으로서 構成된 tripeptide로서, 還元狀態에서 生體에 注入하여야만 保護作用을 나타내고, 더우기 reduced glutathione(GSH)은 다른 SH 基化合物에 比하여 毒性이나 副作用이 적어서 放射線에 對한 生體의 保護物質로서 가장 많이 利用된다고 한다.

그러나 GSH 投與와 寒冷露出을 單獨으로 또는 併合하여 使用한 動物에 X-線全射照射量 後 數種臟器의 蛋白質이 어떻게 變化하느냐에 對해서는 別로 뚜렷한 報告가 없다.

以上과 같은 見地에서 著者들은 마우스를 材料로 하고 ① 900R의 X-線을 全身照射한 群, ② GSH를 投與한 群, 및 ③ GSH 投與後 X-線 全身照射한 群을 各各 1時間동안 寒冷露出하여 肝臟, 大腦 및 心臟組織의 蛋白質을 測定하여 對照群의 그것과 比較하여 GSH 및 寒冷露出이 蛋白質에 미치는 影響을 觀察함으로써 X-線照射에 對한 이들의 保護作用의 一端을 究明하고자 本 研究를 試圖하여서 그 結果를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

I) 實驗材料

實驗動物로서는 體重 20~25gm의 外見上 健康한 흰 마우스를 雌雄의 區別없이 使用하였다.

Table 1. Changes of Protein Contents of Liver, Brain and Heart of Mouse Following Single or Combined Application of GSH, Cold Exposure and X-irradiation at One Hour

		Liver	Brain	Heart
Normal	Mean*	101.13	62.79	87.08
	SD	17.57	6.89	6.68
	(n)	(6)	(8)	(6)
GSH	Mean*	72.99	47.57	63.92
	SD	17.49	12.61	12.92
	(n)	(14)	(14)	(14)
Cold	Mean*	97.30	51.15	86.61
	SD	13.99	7.54	13.70
	(n)	(6)	(6)	(7)
X(900R)	Mean*	133.36	68.40	97.70
	SD	4.09	3.48	3.54
	(n)	(9)	(8)	(10)
GSH+Cold	Mean*	83.75	39.80	62.08
	SD	8.24	4.64	9.89
	(n)	(10)	(10)	(10)
GSH+X(900R)	Mean*	76.76	47.50	60.91
	SD	12.37	4.95	9.27
	(n)	(8)	(8)	(8)
X(900R)+Cold	Mean*	112.67	58.20	78.39
	SD	4.73	4.12	4.54
	(n)	(9)	(8)	(7)
GSH+X(900R)+Cold	Mean*	84.40	39.00	68.75
	SD	5.92	5.09	4.12
	(n)	(10)	(10)	(10)

* mg/gm wet wt.

II) 實驗方法

1) 實驗群:

實驗動物은 다음의 各群으로 나누었다. 即

第1群: 正常群,

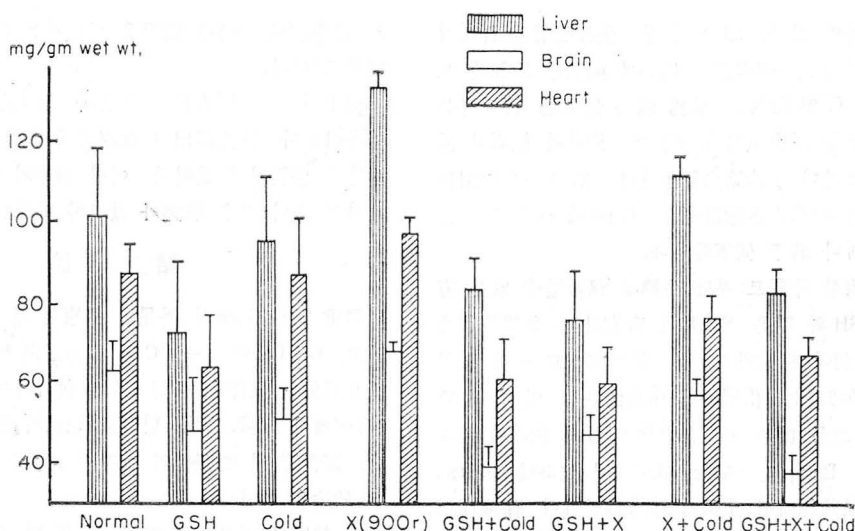


Fig. 1. Changes of protein contents of liver, brain and heart of mouse following single or combined application of GSH, cold exposure and X-irradiation at one hour.

第2群: 對照群.

i) GSH를 體重 1gm 당 1mg을 마우스의 膜腔內로 投與한 後 1時間에 實驗한 群.

ii) 900R의 X線을 全身照射한 群.

iii) $-1 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 의 寒冷環境에 1時間 露出시킨 群.

第3群: 實驗群

i) GSH 投與後 900R의 X-線全身照射을 하고 1時間 後에 實驗한 群.

ii) GSH 投與直後 $-1 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 의 寒冷에 1時間 露出시킨 群.

iii) 900R의 X-線照射後 1時間동안 寒冷에 露出시킨 群.

iv) GSH 投與直後 X-線을 全身照射하고, 곧 1時間동안 寒冷에 露出시킨 群.

2) X-線照射:

200KV, 15mA, 1mm Al 및 0.5mm Cu filter를 使用하고, target-object의 距離는 50cm의 條件으로, 單回에 900R의 X-線을 全身照射하였다.

3) 寒冷露出:

$-1 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 로 調節된 約 901의 冷藏庫속에 實驗動物을 1回 1匹씩 投入하고, 每 20分마다 開庫하여 空氣를 流通시켰다.

4) 摘出臟器 및 摘出方法:

마우스를 cervical dislocation으로 犠牲시킨 後 肝臟, 心臟 및 大腦組織을 摘出하여서 實驗에 使用하였다.

5) 蛋白質量의 定量:

各 臟器 50mg을 Torsion balance로서 正確히 秤量하여 即時 Virtis-45型 homogenizer로서 均等液을 作成하고, Folin-Ciocalteu phenol reagent를 使用하여

Lowry 等¹³⁾의 方法에 따라 測定하였다.

實驗成績 및 考察

1) 正常群:

正常群에서의 肝臟, 大腦 및 心臟組織의 蛋白質은 表 1에서 보는 바와 같이 各各 101.13 ± 17.57 , 62.79 ± 6.89 , 및 $87.08 \pm 6.68\text{mg/gm wet wt.}$ 이다.

2) 對照群:

900R의 X-線을 全身照射한 群에서는 蛋白質이 肝臟, 大腦 및 心臟組織에서 各各 133.36 ± 4.09 , 68.40 ± 3.48 및 $97.70 \pm 3.54\text{mg/gm wet wt.}$ 로서 各臟器에서 모두 正常値보다 顯著한 增加를 보였고, reduced glutathione (GSH)를 投與한 群에서는 72.99 ± 17.49 , 47.57 ± 12.61 , 및 $63.92 \pm 12.92\text{mg/gm wet wt.}$ 로서 各臟器에서 모두 X-線照射時와는 反對로 顯著히 低下되었다. 그러나 寒冷露出群에서는 各各 97.30 ± 13.99 , 51.15 ± 7.54 , 및 $86.61 \pm 13.70\text{mg/gm wet wt.}$ 로서 正常値에 비해 若干 減少함을 보였다.

3) 實驗群:

900R을 全身照射한 後 1時間동안 寒冷($-1 \pm 0.2^\circ\text{C}$)에 露出시킨 群에서는 肝臟, 大腦 및 心臟組織에서 各各 112.67 ± 4.73 , 58.20 ± 4.12 , 및 $78.39 \pm 4.54\text{mg/gm wet wt.}$ 의 蛋白質을 나타냄으로써 正常値와 거의 비슷했으나 GSH 投與後 寒冷露出群, GSH 投與後 X-線全身照射群 및 GSH 投與直後 X-線全身照射하고, 곧 寒冷露出한 群에서는 各臟器에서 모두 正常値에 比하여 相當히 減少되었다.

이들 各臟器에서의 各群別 數値들을 綜合해보면 圖表

1에서 보는 바와 같다. 卽 X-線을 全身照射한 群에서는 各臟器에서 모두 正常値에 比하여 顯著한 增加를 보였고, 反對로 GSH 投與를 單獨 或은 併用한 群에서는 各臟器에서 모두 蛋白量이 正常値에 比하여 相當히 減少되었다. 그러나 寒冷露出群에서나 X-線全身照射後 寒冷露出한 群에서는 各臟器에서 蛋白量이 大體로 正常値와 비슷하거나 若干 低下되었다.

放射線에 依한 障礙로 부터 生體를 保護할수 있는 方法으로서 GSH와 같은 SH基를 含有하는 化學物質을 放射線照射直前に 投與함으로써 放射線으로 부터 生體의 保護를 期待하는 化學的인 保護法은 이미 Pihl 및 Eldjarn¹⁴⁾과 그外 많은 研究者^{17, 18-19)}들에 依해서 確立되어 있으며, Bacq 및 Alexander¹³⁾에 依하면 glutathione은 還元狀態에서 生體에 注入하여야만 保護作用을 나타내고, 더우기 다른 SH基化合物에 比하여 毒性이나 副作用이 적어서 放射線保護物質로서 가장 많이 利用된다고 한다.

그外에도 低酸素症, 細胞內 酸素交換의 低下 및 低溫狀態等이 有効한 保護作用이 있다^{18, 24)}고 한다. 卽 動物이 寒冷(低溫)에서는 모든 代謝過程이 抑制되고, 이때에 放射線을 照射하면 放射線에 依한 障礙가 減少하여 寒冷露出이 放射線에 對한 一種의 保護作用을 나타낼수 있다¹⁻¹¹⁾ 함은 周知의 事實이다.

그러나 新陳代謝率의 低下가 動物의 放射線感受度を 變更시키는데 重要な 要素가 될수는 있겠지만, 아직도 寒冷(低溫)狀態에 起因하는 放射線感受度の 變更의 機轉은 充分히 說明되어 있지 않다.

Martin 및 Henry²¹⁾, Lambert²²⁾와 Taylor²³⁾에 依하면 寒冷(低溫)環境에 露出된 動物에서는 positive acceleration stress에 對한 抵抗力이 增加된다고 하며, 一般的으로 生體의 新陳代謝가 低下될수 있을 程度로 動物을 低溫에 露出시키면 어떤 種類의 stress에도 恒常 그 stress에 對한 抵抗力이 增加된다^{24, 25)}고 한다.

지금까지의 低溫 或은 寒冷露出에 依한 放射線으로 부터의 保護作用에 對한 研究은 大部分이 生存期間이나 死亡率等에 關한 것들이어서 著者들은 -1°C 의 寒冷環境과 GSH 投與 및 900R의 X-線全身照射의 條件들을 單獨 或은 併用하여 마우스의 重要臟器인 肝, 大腦 및 心臟組織의 蛋白量의 變動을 觀察하였던 것인데, 그 結果를 綜合하여 보면, GSH에 依한 放射線에 對한 保護作用은 著者들의 實驗結果로서도 充分히 立證된다고 하겠으나, 寒冷露出의 放射線에 對한 保護作用에 關해서는 著者들의 實驗結果로서는 充分히 證明하기가 困難하다고 하겠다.

一般的으로 寒冷露出이 放射線에 依한 損傷을 減少시킬 수 있음은 거의 確實하다고 하겠으나, 이때에 生體

의 代謝過程이 어떤 變動을 하는지는 明白한 說明이 困難할 것이다.

以上の 여러 學者들의 報告와 著者들이 얻은 結果로 미루어보아 寒冷露出이 放射線에 依한 損傷으로 부터 生體를 保護함에 있어서 어떤 機序가 關與하느냐에 對해서는 좀더 깊은 研究이 있어야 하겠다.

結 論

體重 20~25gm의 外見上 健康한 흰 사우스를 材料로 하고, GSH 投與, -1°C 의 寒冷露出 및 900R의 X-線全身照射의 條件을 單獨 或은 併合하여 使用하여 各各 1時間에서 肝臟, 大腦 및 心臟組織의 蛋白量을 測定하여, 正常群 및 對照群의 그것과 比較한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 健康한 마우스의 肝臟, 大腦 및 心臟의 正常蛋白量은 各各 그 平均値가 101.13, 62.79 및 87.08mg/gm wet wt.이었다.

2) 各 實驗群에 있어서는 各 臟器에서 若干의 差異는 있으나 各 臟器에서 모두 X-線照射단으로는 蛋白量이 正常에 比하여 顯著히 높았으며, GSH의 投與로서는 正常以下로 低下되었다.

3) 그러나 寒冷露出群에서나 X-線照射後 寒冷露出한 群에서는 蛋白量이 各 臟器에서 正常値와 비슷하거나 若干 低下되었다.

4) GSH, X-線照射 및 寒冷露出을 併用한 群에서는 各 臟器에서 모두 蛋白量이 正常値에 比하여 相當히 減少되었다.

參 考 文 獻

- 1) Cook, E. D.: *Influence of low temperature on recovery from roentgen rays.* Radiol., 32:289, 1939.
- 2) Horsey, S.: *The effect of hypothermia on the radiosensitivity of mice to whole body X-irradiation.* Proc. Roy. Soc., London, Ser. B., 147: 547, 1957.
- 3) Hyodo, Y.: *Development of intestinal damage after X-irradiation and H^3 -thymidine incorporation into intestinal epithelium cells irradiated goldfish, Carassius auratus, at different temperature.* Radiation Res., 26:383, 1965.
- 4) Storer, J. B. and Hempelmann, L. H.: *Hypothermia and increased survival rate of infant mice irradiated with X-rays.* Am. J. Physiol., 171: 341, 1952.
- 5) Carlson, L. D., Scheyer, W. J. and Jackson,

- B.H. : *The combined effects of ionizing radiation and low temperature on the metabolism, longevity, and soft tissues of the white rat, 1. Metabolism and Longevity. Radiation Res.*, 7:190, 1957.
- 6) Levan, H., Hass, R.E., Stefani, S. and Reyes, E. : *Radiosensitivity of mice exposed to various temperatures and low dose rate radiation. Am. J. Physiol.*, 219:1033, 1970.
 - 7) Doull, J. and Dubois, K.P. : *Influence of hibernation on survival time and weight loss of X-irradiated ground squirrels. Proc. Soc. Exptl. Med.*, 84:367, 1953.
 - 8) Patt, H.M. and Swift, M.N. : *The influence of temperature on the response of frog to X-irradiation. Am. J. Physiol.*, 155:388, 1948.
 - 9) Houtermans, T. : *Effect of temperature of radiosensitivity (inactivation dose related to that room temperature) of E. Coli to 90 Kv X-rays, 9B: 600, 1954.*
 - 10) Kimeldorf, D.J. and Newson, B.D. : *Survival of irradiated rats during prolonged exposure to environmental cold. Am. J. Physiol.*, 171:349, 1952.
 - 11) Kuskin, S.M., Wang, S.C. and Rugh, R. : *Protective effect of artificially induced "hibernation" against lethal doses of Whole-body X-irradiation in CF₁ male mice. Am. J. Physiol.*, 196:1211, 1959.
 - 12) Bacq, Z.M. and Alexander P. : *Fundamentals of radiobiology. Pergammon Press, New York, p. 555, 1961.*
 - 13) Lowry, O.H., Rosebrough N.H., Farr, A.L. and Randall, R.J. : *Protein measurement with the Folin Phenol reagent. J. Biol. Chem.*, 193: 265, 1951.
 - 14) Pihl, A. and Eldjarn, L. : *Pharmacological aspects of ionizing radiation and of chemical protection in mammals. Pharmacol. Rev.*, 10: 437, 1958.
 - 15) Pihl, A. and Eldjarn, L. : *Advances in Radiobiology. Oliver and Boyd, Edinburgh, 1957.*
 - 16) Pihl, A. and Eldjarn, L. : *Mechanisms in Radiology. Vol. II. Borrera, M. and Forssberg, A. (eds.) Acad. Press, New York, p. 231, 1960.*
 - 17) Eldjarn, L. and Jollum, E.L. : *IAEA panel on radiation damage to the biological molecular information system with special regard to the role of SH group, 1968.*
 - 18) Balabukha, V.S. : *Chemical protection of the body against ionizing radiation, International series of monographs on pure and applied biology. Pergammon Press, New York, 1963.*
 - 19) Ellman, G.L. : *Determination of non-protein bound sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys.*, 82:70, 1959.
 - 20) Cellular Radiation, Biology, *A collection of papers presented at the 18th annual symposium of fundamental cancer research at the University of Texas M.D. Anderson Hospital and Tumor Institute, Williams and Wilkins Co., Baltimore, Maryland, 1965.*
 - 21) Martin, E.E. and Henry, J.P. : *The effect of time and temperature upon tolerance to positive acceleration. J. Aviation. Aviat. Med.*, 23:382, 1951.
 - 22) Labert, E.H. : *Comparison of the physiologic effects of positive acceleration on a human centrifuge and in airplane. J. Aviat. Med.*, 20:309, 1949.
 - 23) Taylor, C.L. : *Human tolerance for temperature extremes in physics and medicine of upper atmosphere, Albuquergue, New Mexico press, p. 548, 1952.*
 - 24) Friedman, E.W., David, D. and Fimo, J. : *Hypothermia in hemorrhagic shock., Am. J. Physiol.*, 186:521, 1952.
 - 25) Hegnauer, A.H. and Penred, K.E. : *Observations of the pathologic physiology in the hypothermic dog. AF Technical Report, No. 5912, USAF, 1950.*