대한방사선종양학회지 2001;19(1):45 52

생쥐에서 과립구 집락형성인자(Granulocyte-Colony Stimulating Factor)의 공장점막에 대한 방사선 보호효과

가톨릭대학교 의과대학 치료방사선과학교실

유미령 ·정수미 ·계철승 ·김연실 ·윤세철

목 적 : 최근 항암 화학요법이나 두경부의 방사선치료 후 나타나는 백혈구감소증을 치료하기 위해 조혈세포 성장인자인 과립구 집락형성인자를 투여한 결과, 백혈구감소증과 더불어 구강 점막염의 완화가 몇몇 임상연구에서 보고되고 있다. 그러나 그 기전이나 적절한 투여 방법에 대해서는 뚜렷이 밝혀지지 않았으며, 다른 위장관 점막에 대한 보호효과에 대해서도 아직 알려진 바가 없다. 이에 저자는 생쥐 공장 점막에 대한 과립구 집락형성인자의 방사선 보호제로서의 가능성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법 : 실험 동물은 체중 20 g 내외의 생후 4 5주된 BALB/c 생쥐 105 마리로 각각 정상 대조군, 과립구 집락형성인자 단독투여군(제 I 군 : 10 μg/kg/일, 제 II 군 : 100 μg/kg/일), 방사선 단독조사군(7.5 Gy 또는 12 Gy 전신조사), 그리고 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행 처치군(G-CSF I 또는 II+7.5 Gy, G-CSF I 또는 II+12 Gy)의 아홉군으로 구분하였다. 과립구 집락형성인자는 과립구 집락형성인자 단독투여군 및 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군 모두에서 방사선조사 2일 전부터 24시간 간격으로 방사선조사일까지 3일 동안 매일 1회 피하주사하였고, 방사선조사는 6 MV 선형 가속기를 이용하여 7.5 Gy와 12 Gy를 각 군별로 1회 전신조사하였다. 각 군별로 생쥐를 방사선조사 후 1, 3, 7일에 희생하여 공장을 적출하고 H&E 염색 및 PAS 염색을 시행한 후, 공장 조직표본에서 소낭선의 수, 융모의 길이 및 조직학적 손상등급을 측정하고 조직학적 변화를 관찰하였다.

결 과 : 방사선조사없이 과립구 집락형성인자 만을 투여한 군(제 I 군 : 10 μg/kg 및 제 II 군 : 100 μg/kg)에서는 정상 대조군에 비해 생쥐 공장 점막 변화에 유의한 차이가 없었다($p>0.05$). 7.5 Gy 및 12 Gy 방사선 단독조사군에서는 정상 대조군에 비해 공장 점막의 소낭선 수의 감소와 높은 조직학적 손상등급을 관찰하였다($p<0.05$). 7.5 Gy 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군에서는 공장 점막의 손상이 7.5 Gy 방사선 단독조사군에 비해 1일 군에서는 차이가 없었으나($p>0.05$), 3일 군에서 유의하게 높은 소낭선 수 및 낮은 조직학적 손상등급을 관찰하였고, 7일 군에서 낮은 조직학적 손상등급을 관찰하였다($p<0.05$). 12 Gy 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군에서의 공장 점막 손상은 12 Gy 방사선 단독조사군에 비해 소낭선의 수와 융모의 길이, 조직학적 손상등급의 차이가 유의하지 않았으며($p>0.05$), 두 마리를 제외한 대부분의 생쥐가 방사선조사 후 5일 이내에 모두 사망하였다.

결 론 : 한계 선량 이내의 전신 방사선조사시 과립구 집락형성인자는 생쥐의 공장 점막에 대한 방사선보호작용이 있는 것으로 사료된다.

핵심용어 : 과립구 집락형성인자, 방사선, 공장 점막

서 론

종양치료에 있어서 중요한 역할을 하고 있는 외부 방사선치료는 방사선 조사야를 결정하는 데 있어 종양 조직 뿐 아니라 주위의 정상 조직을 일부 포함하게 되므로 이로 인한 정상조직의 손상이 문제가 되어왔다.[1] 이러한 부작용으로 인해 방사선치료를 지속하는 데 지장을 초래할 뿐 아니라 목표로 하는 방사선치료선량을 끝까지 조사하지 못하게 됨으로써 만족할만한 치료결과를 얻지 못하게 된다. 특히 직장암이나 자궁경부암과 같이 복부 및 골반부위가 방사선치료 범위에 들어가게 되는 경우, 방사선으로 인한 위장관 점막의 손상이 불가피하게 되며 이로 인한 치료효과 감소를 해결하기 위해 기계적 또는 물리적 방법 및 방사선반응변조제와 같은 생물학적 방법을 이용하고 있다.[2] 그 중에서 방사선감작제의 경우 부작용이 심하여 임상응용이 어려운 반면, 방사선보호제를 이용한 연구는 최근 들어 sucralfate, pentoxy-

본 논문은 2000년도 가톨릭 중앙의료원 학술연구 보조비로 이루어졌음.

이 논문은 2000년 12월 23일 접수하여 2001년 2월 12일 채택되었음.

책임 저자 : 유미령, 가톨릭대학교 강남성모병원 치료방사선과

Tel : 02)590-1567, Fax : 02)3476-1365

E-mail : mryu@cmc.cuk.ac.kr

fylline, glutamine 및 prostaglandin 등과 같은 제재를 사용하였으나 아직까지 임상에서 큰 효과를 보지 못하고 있다.[3, 4]

과립구 집락형성인자(granulocyte-colony stimulating factor)나 과립구-대식세포 집락형성인자(granulocyte-macrophage colony stimulating factor)는 조혈세포의 성장인자로서 항암화학요법이나 방사선치료로 인해 초래되는 백혈구감소증의 치료에 널리 사용되고 있는 cytokine 제재이다. 최근 몇몇 임상연구에서 과립구 집락형성인자를 항암화학요법 또는 두경부암의 방사선치료 후 나타나는 백혈구감소증 치료를 위해 사용한 결과 백혈구감소증과 더불어 구강 점막염까지 호전됨이 보고되었다.[4-6] 그러나 그 기전이나 적절한 투여 방법이 밝혀지지 않은 상태이며 다른 위장관 점막에 대한 보호효과에 대해서도 아직 밝혀지지 않았다.

이에 저자는 생쥐에 전신 외부방사선조사시 과립구 집락형성인자를 투여하여 과립구 집락형성인자에 의한 공장점막 보호효과 여부를 알아보고자 본 실험을 시행하였다.

대상 및 방법

1. 실험 동물 및 실험군 편성

가톨릭 의과학원 실험동물실에서 제공받은 체중 20 g 내외의 생후 4 5주된 수컷 BALB/c 생쥐들을 실험 1주일 전부터 온도, 습도가 조절된 동일한 사육 조건하에서 적응시킨 뒤 건강한 생쥐만을 골라 실험에 사용하였다.

실험군은 정상대조군, 과립구 집락형성인자 단독투여군, 방사선 단독조사군, 그리고 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군으로 나누었다. 과립구 집락형성인자 투여군은 투여 용량에 따라 kg당 10 μg을 투여한 군 (제 I 군) 과 kg당 100 μg을 투여한 군(제 II 군) 으로, 방사선조사군은 방사선 조사량에 따라 7.5 Gy 조사군과 12 Gy 조사군으로 각각 나누었다. 그리고 방사선조사 후 도살까지의 일수에 따라 1일, 3일 및 7일군으로 각각 세분하였다. 생쥐는 각 군마다 5마리씩 총 105마리를 편성하였으며 실험군의 편성은 Table 1과 같다.

2. 과립구 집락형성인자 투여

과립구 집락형성인자(Neutrogin®, 중외제약, 한국)는 과립구 집락형성인자 단독투여군 및 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군 모두에서 각각 kg당 10 μg과 100 μg의 과립구 집락형성인자를 방사선조사 2일 전부터 24시간 간격으로 방사선조사일까지 3일 동안 매일 1회 피하 주사하였다.

3. 방사선 조사

방사선은 6 MV 선형가속기(Mevatron MX-2, Siemens, USA)를 이용하여 선원 중심축거리 1 m, 분당 선량율 3 Gy 로 7.5 Gy와 12 Gy를 각 군별로 마취하지 않은 상태에서 1회 전신 조사하였다.

4. 말초 혈액의 백혈구 수 검사

과립구 집락형성인자 투여 1일 전, 방사선조사 직전 및 방사선조사 후 만 1, 3, 7일째에 생쥐 희생 직전 각 군의 생쥐를 마취시킨 뒤 내안각(medial canthus) 에 위치한 안와총(orbital plexus) 에서 말초혈액을 채취하여 백혈구 수를 조사하였다.

5. 병리조직학적 관찰

각 군별로 방사선조사 후 1, 3, 7일에 경추탈구로 희생시킨 뒤 즉시 개복하여 상부공장을 적출 한 후 생리식염수로 세척하였다. 10% 포르말린용액으로 고정시켜 파라핀 블록을 만든 후 조직 슬라이드에 H&E 및 PAS 염색을 실시하였다. 공장의 경우 Withers 와 Elkind (1970)의 방법[7]에 따라 횡절단면 상에 나타난 소낭선의 수(crypt count per circumference) 및 공장 융모(villi)의 길이를 계측하였으며, Mulholland (1984) 의 방법[8]에 따라 장관 손상정도를 5등급으로 나누어 평가하였다. 즉, 공장 조직 표본에서 점막층의 높이, 점막하 부종, 염증성 침윤, 혈관 충혈 및 점액 세포의 소실 정도를 각각 5등급으로 나누고, 정상에 가까운 것을 0으로, 심한 손상이 있을 때를 4로 정하여 각각의 손상 정도를 점수로 표시한 뒤 그 합을 구하였다.

6. 통계학적 검정

정상 대조군과 과립구 집락형성인자 단독 투여군, 방사선

Table 1. The Grouping of BALB/c Mice

RT* dose (cGy)		G-CSF† dose (μg/kg/day)		
		0	10	100
0		5	5	5
750	Day1	5	5	5
	Day3	5	5	5
	Day7	5	5	5
1200	Day1	5	5	5
	Day3	5	5	5
	Day7	5	5	5

* RT : radiation
† G-CSF : granulocyte-colony stimulating factor (Neutrogin®)

단독조사군 및 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군(제 I 군 및 제 II 군)에 있어서 소낭선의 수, 융모의 길이, 조직학적 등급의 차이를 Student t-test 또는 분산 분석법(ANOVA)을 이용하여 검정하였으며, 유의한 결과에 대하여 다중비교(multiple comparison)를 하였다. 유의수준은 5% 이하로 하였다.

결 과

1. 말초혈액 백혈구수

7.5 Gy 방사선조사군에서 방사선조사 후 1일째부터 말초 백혈구수가 감소하기 시작하여 7일째 최저치를 나타내었다. 또한 12 Gy 방사선 조사군에서도 방사선조사 후 1일째부터 말초 백혈구수가 감소하기 시작하여 3일째 최저치를 보였다. 그러나 7.5 Gy 및 12 Gy군 모두에서 과립구 집락형성인자 병행투여가 방사선조사 후 말초 백혈구수의 변화에 영향을 미치지 못하였다(Fig. 1).

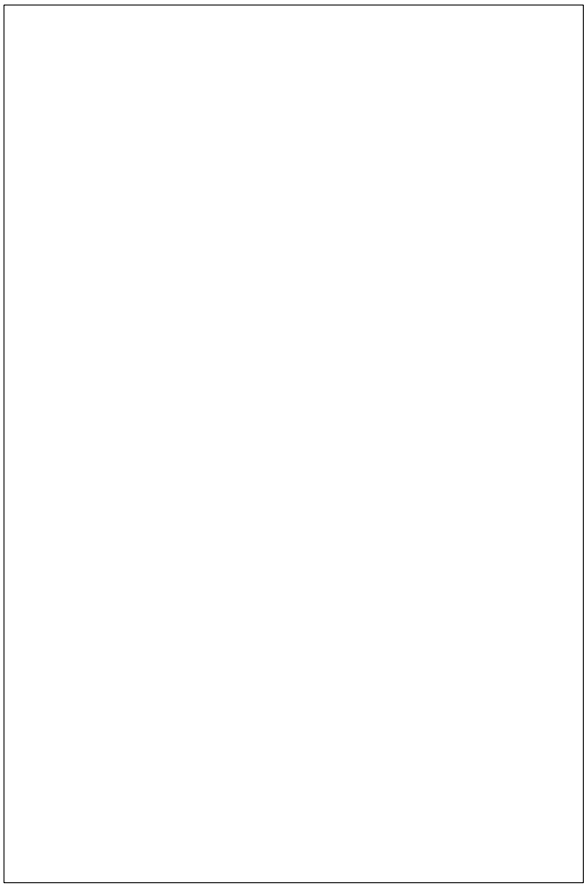

Fig. 1. Changes of WBC counts in peripheral blood of mice A. After irradiation (D0) of 7.5 Gy B. After irradiation (D0) of 12 Gy.

2. 공 장

1) **소낭선의 수**(number of crypt count per circumference)

정상 대조군에서 횡절단면 소낭선 수는 138±5.4 이었다. 과립구 집락형성인자 단독투여군(제 I군 및 제 II군)에서의 소낭선 수는 정상 대조군의 소낭선 수와 유의한 차가 없었다($p>0.05$). 7.5 Gy 및 12 Gy 방사선 단독조사군에서의 소낭선 수는 정상 대조군에 비해 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 7.5 Gy 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군(제 I 군 및 제 II 군) 의 소낭선 수는 7.5 Gy 방사선 단독조사군의 소낭선 수에 비해, 1일 군 및 7일 군에서는 유의한 차이가 없었으나($p>0.05$), 3일 군에서는 유의하게 증가하였다($p<0.05$). 그러나 과립구 집락형성인자 병행 처치군 제 I 군과 제 II 군 사이에는 차이가 없었다($p>0.05$) (Table 2). 12 Gy 방사선 단독조사군과 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군(제 I 군 및 제 II 군)에서의 소낭선 수는 12 Gy 방사선 단독조사군에 비해 1일 군 및 3일 군에서 차이가 없었다($p>0.05$). 생쥐는 방사선조사 후 5일이내에 두 마리를 제외하고 모두 사망하여 7일 군에서는 결과를 관찰할 수가 없었다.

2) **융모의 길이**(microvillus length)

과립구 집락형성인자 단독투여군(제 I 군 및 제 II 군)에서의 융모의 길이는 정상 대조군의 융모의 길이와 차이가 없었다($p>0.05$). 7.5 Gy 및 12 Gy 방사선 단독조사군의 융모 길이는 정상 대조군에 비해 3일 군에서 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 7.5 Gy 및 12 Gy 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군(제 I 군 및 제 II 군) 의 융모의 길이는 7.5 Gy 및 12 Gy 방사선 단독조사군에 비해 차이가 없었다($p>0.05$).

3) **조직학적 손상 등급**(histologic damage score)

과립구 집락형성인자 단독 투여군(제 I 군 및 제 II 군)에

Table 2. The Mouse Jejunal Crypt Counts in 7.5 Gy Irradiation and Combination (Irradiation + G-CSF) Groups

Day	G-CSF* dose (μg/kg/day)		
	0	10	100
1	125.8±4.02	128.0±5.4	125.2±4.0
3	95.8±4.02	110.2±2.6†	111.8±4.5†
7	113.2±4.3	115.0±4.5	117.6±4.4

*G-CSF : granulocyte-colony stimulating factor
†$p<0.05$

서의 조직학적 손상등급은 정상 대조군과 차이가 없었다 ($p>0.05$). 7.5 Gy 및 12 Gy 방사선 단독조사군에서의 조직학적 손상등급은 정상 대조군에 비해 유의하게 증가하였다($p<0.05$). 7.5 Gy 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군(제 I 군 및 제 II 군)의 조직학적 손상등급은 7.5 Gy 방사선 단독조사군에 비해 1일군에서는 유의한 차이가 없었으나($p>0.05$), 3일 군 및 7일 군에서는 유의하게 낮았다($p<0.05$). 또한 과립구 집락형성인자 병행처치군 제 I 군과 제 II 군 사이에서는 차이가 없었다($p>0.05$) (Table 3). 12 Gy 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군(제 I 군 및 제 II 군)에서의 조직학적 등급은 12 Gy 방사선 단독조사군에 비해 1일 군 및 3일 군에서 차이가 없었다($p>0.05$).

4) 공장의 현미경 소견

정상적인 공장점막은 소낭선이 잘 발달되어 있으며 융모의 높이가 높고 염증의 소견이 없으며 점액세포가 점막의 전장에 걸쳐 관찰되었다(Fig. 2). 7.5 Gy 방사선 단독조사시 1일 군에서는 소낭선이나 융모에 큰 손상이 없었으나 개개의 소낭선 상피세포들의 괴사가 심하였다. 3일 군에서 소낭선 수는 심하게 감소되었으며 융모는 변형되고 점막 높이도 감소되었으며 점막하 염증세포 침윤 및 점액 세포의 소실이 현저하였다(Fig. 3A). 7일 군에서는 소낭선의 세포가 왕성히 재생되어 융모 최상부층에서도 재생된 세포가 관찰되었다(Fig. 4A). 7.5 Gy 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군에서는 1일 군에서 방사선 단독조사군과 큰 차이가 없었으나, 3일 군에서는 융모의 손상이 훨씬 적었으며 점액세

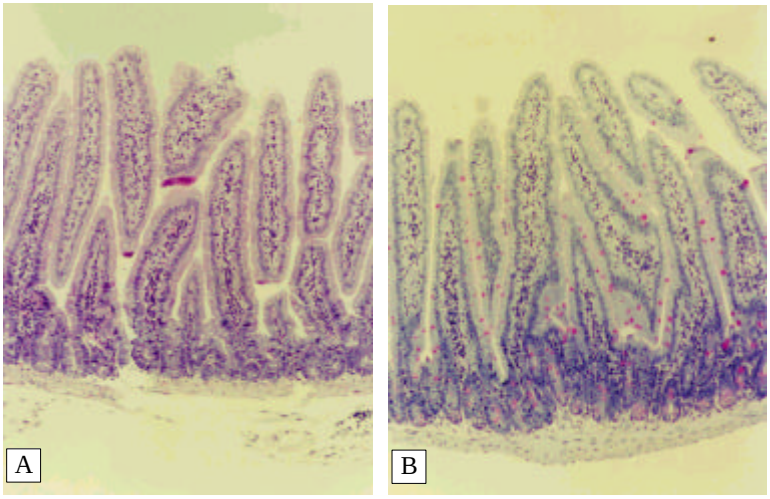

Fig. 2. Normal mouse jejunum. A. Villous architectures were normal (H-E stain, ×100). B. PAS positive mucus cells were noted in the entire length of villi (PAS stain, ×100).

Table 3. The Median Histologic Damage Scores in 7.5 Gy Irradiation and Combination (Irradiation+G-CSF) Groups in Mice

G-CSF dose (μg/ kg/ day)	Day	Mucosal thickness	Submucosal edema	Inflammation score	Vascularity	Mucus cell loss	Summation
0	1	1	1	1	0	0	3
	3	2	2	2	1	1	8
	7	1	1	1	1	1	5
10	1	0	1	1	0	0	2
	3	1	1	1	1	1	5†
	7	0	0	1	1	0	2†
100	1	0	1	1	0	1	3
	3	1	1	1	1	0	4†
	7	0	0	1	1	0	2†

*G-CSF : granulocyte-colony stimulating factor, †$p<0.05$

포도 많았고 염증반응도 미약하였다(Fig. 3B). 7일 군에서는 방사선 단독조사군에 비해 융모의 상피세포들이 재생되어 정상 점막과 유사하였다(Fig. 4B). 12Gy 방사선 단독조사군에서는 7.5 Gy 조사군과 마찬가지로 1일 군에서는 세포의 괴사, 부종, 충혈 등이 미미하게 관찰되었으나, 3일 군에서 소낭선이 심하게 파괴되어 변형되었으며 심한 염증반응이 관찰되었고 점액세포도 많이 감소되어 있었다. 또한 12 Gy 방사선조사와 과립구 집락형성인자 병행처치군에서도 방사선 단독 조사군과 크게 차이를 보이지 않았다.

고안 및 결론

외부방사선을 이용한 종양치료에 있어서 치료부위내의 종양조직 뿐 아니라 주변의 정상조직 또한 불가피하게 방사선을 일부 조사하게 되므로 치사선량의 방사선조사시 정상조직의 손상이 항상 문제가 되어왔다. 최근 방사선에 대한 생체의 반응을 변화시키는 여러 cytokine에 대한 효과가 알려지면서[9, 10] 특히 과립세포 형성을 자극하는 cytokine 제재인 과

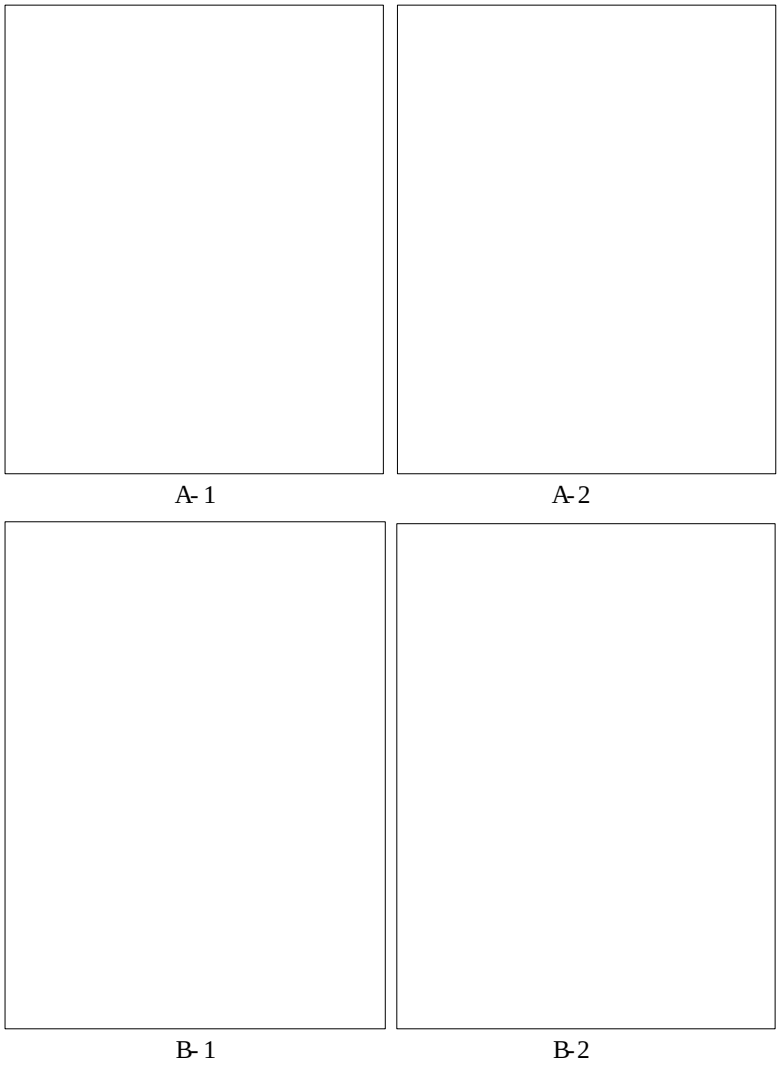

Fig. 3. Mouse jejunum on 3 days after 7.5 Gy irradiation. A. Radiation alone. A-1. The crypts were distorted and depopulated. The villi were shortened, fused, and eroded (H-E stain, ×100). A-2. Inflammatory infiltrations were seen in the lamina propria (PAS stain, ×100). B. Radiation and G-CSF (10 μg/kg) combination. B-1. The numbers of crypts were less decreased and the shapes of villi were less shortened and distorted than those of radiation alone group (H-E stain, ×100). B-2. PAS stain, ×100.

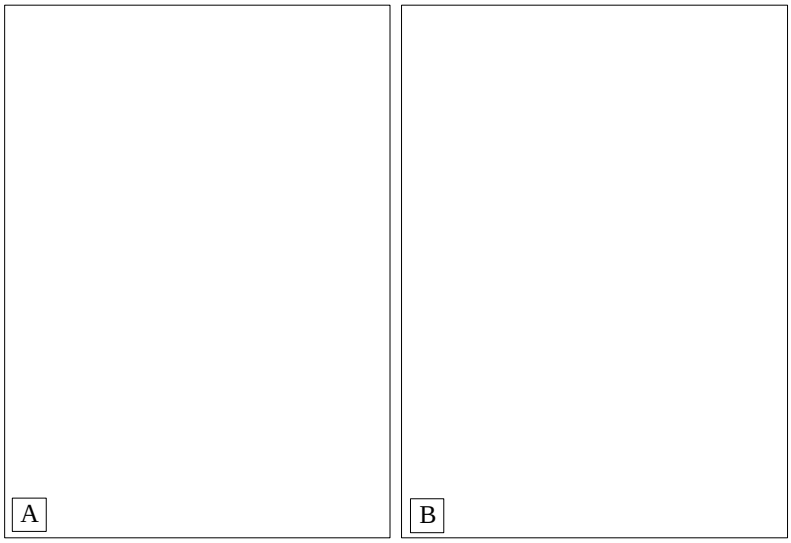

Fig. 4. Mouse jejunum on 7 days after 7.5 Gy irradiation. A. Radiation alone. The evidences of regeneration in the crypts were observed but the shapes of villi were still shortened and fused (H-E stain, ×100). B. Radiation and G-CSF (10 μg/ kg) combination. Almost complete regeneration of crypts and villi were noted (H-E stain, ×100).

립구 집락형성인자에 대한 관심이 집중되고 있고 일부 임상적으로 이용되고 있다.

과립구 집락형성인자는 과립구-대식세포 집락형성인자(granulocyte-macrophage colony stimulating factor)와 함께 당단백질 성장인자족(glycoprotein growth factor family)에 속하는 cytokine제재로서 시험관내에서 다형핵백혈구계열 세포의 성장과 분화를 촉진하는 것으로 처음 발견되었으나, 생체내에서는 모든 조혈전구세포들에 대해 직접, 간접으로 성장과 분화를 촉진시키는 작용이 있음이 알려졌다. 최근 들어 유전자 재조합 기법이 발전됨에 따라 많은 조혈 성장인자가 고정제 형태로 임상에서 사용되고 있다. 이러한 당단백질의 작용은 초기에는 조혈세포에만 국한된 것으로 생각되었으나, 실험실 연구결과 인간 내피세포의 이동과 증식에도 영향을 미치는 것으로 알려져 조혈계 밖의 조절신호로 작용할 수 있다는 가능성을 제시하였으며,[11] 임상 연구에서도 이러한 조절 단백질들이 인두구강부의 점막세포를 자극한다는 것이 보고되고 있다. Chi 등[12]과 Kannan 등[13]은 항암 화학요법 또는 두경부 방사선치료를 받는 환자에서 과립구-대식세포 집락형성인자를 피하 주사하여 구강 점막염 감소를 관찰하였고, Nicolatou 등[14]과 Karthaus 등[15]도 각각 구강 점막에 대한 과립구-대식세포 집락형성인자와 과립구 집락형성인자를 국소로 투여하여 직접적인 보호효과를 관찰하였다. 그러나 구강 점막 이외에 다른 소화기계통 점막에 대한 과립구 집락형성인자의 영향에 대해서는 아직 연구가 이루어지지 않은 상태이다.

소장 점막은 증식속도가 빠른 조직으로 방사선에 대한 반응이 조기에 나타나 표피세포의 괴사가 일어난다. 생쥐에 5 10 Gy 전신 방사선 조사시 소낭선 세포의 파괴는 24시간에 최고에 달하며 4일 이내에 재생이 시작된다.[16] 그러나 10 Gy 이상으로 방사선 조사량이 증가하면 소낭선내의 기간세포가 대부분 파괴되어 상피세포의 재생이 불가능해진다.[17] 따라서 저자는 방사선조사량을 생쥐 조혈 치사량과 장관 치사량 사이의 범위로 국한하여 그 중 저선량인 7.5 Gy와 고선량인 12 Gy 두 군으로 정하였으며, 방사선 손상정도를 평가하기 위하여 방사선 조사 후 1, 3, 7일에 걸쳐 점막 손상정도를 관찰하였다.

이 연구에서 사용한 과립구 집락형성인자는 종간 교차반응성이 있는 것으로 밝혀진[18] 재조합 인형 과립구집락형성인자(recombinant human G-CSF)이다. 조혈계손상에 대한 보호효과를 알아보기 위한 다른 연구에서도 실험 모델에 따라 다양한 용량이 시도되었는데,[19, 20] 저자는 과립구 집락형성인자 용량을 10 μg/kg (제 I 군) 및 100 μg/kg (제 II 군)의 두 군으로 나누어 실험하였다. 또한 투여 시기도 실험 모델에 따라 다양하게 시도되고 있으나 본 연구에서는 방사선조사 전 투여가 골수 전구세포로 하여금 준치사 방사선 손상으로부터 효과적으로 회복할 수 있도록 하여 그들을 방사선에 덜 민감하게 해주고, 치사량의 전신방사선조사시 과립구 집락형성인자가 BALB/c 생쥐에 대한 상당한 생체내 방사선보호효과를 가지고 있다는 연구[19]에 근거하여 과립구 집락형성인자

를 방사선조사 전 3일동안 지속적으로 투여함으로써 일정한 혈중농도를 유지하도록 하였다.

본 연구에서는 7.5 Gy 방사선조사군에서 3일째와 7일째에 생쥐 공장에 대한 방사선보호효과를 관찰하였으나, 12 Gy 방사선조사군에서 5일 이내에 대부분이 사망한것으로 보아 공장점막의 손상정도가 커서 실험에 사용된 용량의 과립구 집락형성인자로는 방사선에 의한 장관손상을 막을 수 없었던 것으로 추정된다.

최근 임상연구에서 보고되고 있는 구강점막에 대한 과립구 집락형성인자 또는 과립구-대식세포 집락형성인자의 방사선보호작용 기전으로 이 약제가 성숙된 과립구의 세포독성 및 살균성을 증가시키고 호중구의 이동, 식작용, 또는 세포독성을 자극함으로써 호중구를 국소적으로 활성화시킨다는 가설 등[21]이 제시되어 이러한 약제의 국소 투여가 시도되고 있으나 정확한 기전은 아직 밝혀져 있지 않다. 본 연구에서는 과립구 집락형성인자 병행투여군에서 방사선 단독조사군에 비해 방사선조사 후 7일째까지 말초 백혈구수가 감소함이 관찰되었다. 이는 Pospisil 등[22]에 의한 연구에서 B10CBAF1 생쥐에 과립구 집락형성인자를 하루 3 μg씩 4일간 투여하고 마지막 투여 후 3시간에 650 cGy 전신 방사선조사 했을 때 생쥐 골수의 과립구-대식세포 전구세포와 과립구 세포수가 방사선조사 후 18일까지 감소할 뿐 아니라 말초혈액 백혈구수도 방사선조사 후 14일까지 감소함과 일치하는 소견이었으며, 이는 과립구 집락형성인자의 공장 점막에서의 방사선보호효과가 말초백혈구 수와는 무관한 다른 기전에 의한 것이라는 간접적인 증거가 될 수 있다. 그러나 소장에 대한 방사선보호작용 기전에 대해 아직 밝혀진 것이 없으며, 이를 명확히 하기 위해서는 분자생물학적 기법을 이용한 좀 더 광범위한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이 연구의 결과를 토대로 향후 과립구 집락형성인자의 방사선보호효과를 임상에 적용해 나가기 위하여 적절한 투여시기 및 기간, 용량에 대한 다각적 연구와 함께 이 약제의 정상조직 뿐 아니라 종양에 대한 영향에 대해서도 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. **Berthrong M, Fajardo LF.** Radiation injury in surgical pathology. Part Ⅱ: Alimentary tract. Am J Surg Pathol 1981;5 : 153-178
2. **Hall EJ.** Radiobiology for the radiologist. 4th ed. Philadelphia : J.B. Lippincott, 1994 : 165-181
3. **김현숙, 윤세철.** 방사선조사에 의한 흰쥐 위점막손상에 대한 sucralfate의 보호효과. 가톨릭대학원 의학부 논문집 1997 ;2월:255-262
4. **Symonds RP.** Treatment-induced mucositis: an old problem with new remedies. Br J of Cancer 1998;77:1689-1695
5. **Johston EM, Crawford J.** Hematopoietic growth factors in the reduction of chemotherapeutic toxicity. Semin in Oncol 1998;25(5):552-561
6. **Lieschke GJ, Ramenghi U, O'Connor MP, Sheridan W, Szer J, Morstyn G.** Studies of oral neutrophil levels in patients receiving G-CSF after autologous marrow transplantation. Br J of Haematol 1992;82:589-595
7. **Wither HR, Elkind MM.** Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa. Int J Radiat Biol 1970;17:261-267
8. **Mulholland MW, Levitt SH, Song CW, Potish RA, Delaney JP.** The role of luminal contents in radiation enteritis. Cancer 1984;54:2396-2402
9. **Neta R, Douches S, Oppenheim JJ.** Interleukin 1 is a radioprotector. J Immunol 1986;136(7):2483-2485
10. **Neta R, Oppenheim JJ, Douches SD.** Interdependence of the radioprotective effects of human recombinant interleukin 1α, tumor necrosis factor α, granulocyte colony-stimulating factor, and murine recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. J Immunol 1988;140:108-111
11. **Bussolino F, Wang JM, Defilippi P, et al.** Granulocyte- and granulocyte-macrophage-colony stimulating factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate. Nature 1989;337:471-473
12. **Chi KH, Chen CH, Chan WK, et al.** Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on oral mucositis in head and neck cancer patients after cisplatin, fluorouracil, and leucovorin chemotherapy. J Clin Oncol 1995;13(10):2620-2628
13. **Kannan V, Bapsy P, Anantha N, et al.** Efficacy and safety of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) on the frequency and severity of radiation mucositis in patients in head and neck carcinoma. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1997;37:1005-1010
14. **Nicolatou O, Lontou AS, Skarlatos J, Kyprianou K, Kolitsi G, Dardoufas K. A** pilot study of the effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on oral mucositis in head and neck cancer patients during X-radiation therapy : A preliminary report. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998;42:551-556
15. **Karthaus M, Rosenthal C, Huebner G, et al.** Effect of topical oral G-CSF on oral mucositis : a randomized placebo-controlled trial. Bone Marrow Transplant 1998;22:781-785
16. **Farrel R, editor.** Stomach and small intestine. In : Cox JD. Moss's Radiation Oncology-Rationale, Technique, Results. 7th ed. St. Louis : Mosby-Year Book, 1994:428-439
17. **Hagemann RF, Sigdestad CP, Lesher S.** Intestinal crypt survival and total and per crypt levels of proliferative cellularity following irradiation : Single X-ray exposures. Radiat Res

1971;46:533-546

18. **Tanikawa S, Nakao I, Tsuneoka K, Nara N.** Effects of recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rG-CSF) and recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rGM-CSF) on acute radiation hematopoietic injury in mice. Exp Hematol 1989;17:883-888
19. **Uckun FM, Souza L, Waddick KG, Wick M, Song CW.** In vivo radioprotective effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in lethally irradiated mice. Blood 1990;75:638-645
20. **Waddick KG, Song CW, Souza L, Uckun FM.** Comparative analysis of the in vivo radioprotective effects of recombinant granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF), recombinant granulocyte-macrophage CSF, and their combination. Blood 1991;77:2364-2371
21. **Spiekermann K, Emmendocrffer A, Elsner J.** Altered surface marker expression and function of G-CSF induced neutrophils from text subjects and patients under chemotherapy. Br J Haematol 1994;87:31-38
22. **Pospisil M, Hofer M, Netikova J, et al.** Pretreatment with granulocyte colony-stimulating factor reduces myelopoiesis in irradiated mice. Radiat Res 1999;151:363-367

Abstract

Radioprotective Effects of Granulocyte-Colony Stimulating Factor in the Jejunal Mucosa of Mouse

Mi Ryeong Ryu, M.D., Su Mi Chung, M.D., Chul Seung Kay, M.D.,
Yeon Shil Kim, M.D. and Sei Chul Yoon, M.D.

Department of Therapeutic Radiology, Kangnam St. Mary's Hospital
The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Purpose : Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) has been widely used to treat neutropenia caused by chemotherapy or radiotherapy. The efficacy of recombinant human hematopoietic growth factors in improving oral mucositis after chemotherapy or radiotherapy has been recently demonstrated in some clinical studies. This study was designed to determine whether G-CSF can modify the radiation injury of the intestinal mucosa in mice.

Materials and Methods : One hundred and five BALB/c mice weighing 20 grams were divided into nine subgroups including G-CSF alone group (I: 10 μg/kg or II: 100 μg/kg), radiation alone group (7.5 or 12 Gy on the whole body), combination group with G-CSF and radiation (G-CSF I or II plus 7.5 Gy, G-CSF I or II plus 12 Gy), and control group. Radiation was administered with a 6 MV linear accelerator (Mevatron Siemens) with a dose rate of 3 Gy/min on day 0. G-CSF was injected subcutaneously for 3 days, once a day, from day -2 to day 0. Each group was sacrificed on the day 1, day 3, and day 7. The mucosal changes of jejunum were evaluated microscopically by crypt count per circumference, villi length, and histologic damage grading.

Results : In both G-CSF I and II groups, crypt counts, villi length, and histologic damage scores were not significantly different from those of the control one ($p>0.05$). The 7.5 Gy and 12 Gy radiation alone groups showed significantly lower crypt counts and higher histologic damage scores compared with those of control one ($p<0.05$). The groups exposed to 7.5 Gy radiation plus G-CSF I or II showed significantly higher crypt counts and lower histologic damage scores on the day 3, and lower histologic damage scores on the day 7 compared with those of the 7.5 Gy radiation alone one ($p<0.05$). The 12 Gy radiation plus G-CSF I or II group did not show significant difference in crypt counts and histologic damage scores compared with those of the 12 Gy radiation alone one ($p>0,05$). Most of the mice in 12 Gy radiation with or without G-CSF group showed intestinal death within 5 days.

Conclusion : These results suggest that G-CSF may protect the jejunal mucosa from the acute radiation damage following within the tolerable ranges of whole body irradiation in mice.

Key Words : G-CSF, Radiation, Jejunal mucosa