

방사선 조사후 흰쥐 췌장 외분비선의 조기 변화와 췌장염 유발에 관한 연구

연세대학교 의과대학 외과학교실, 약리학교실*

김남규 · 이경식 · 이민구* · 김경환*

= Abstract =

The Early Changes of Exocrine Pancreas and the Induction of Acute Pancreatitis after Irradiation in Rats

Nam Kyu Kim M.D., Kyong Sik Lee M.D., *Min Goo Lee M.D. and *Kyung Hwan Kim M.D.

Department of Surgery and *Pharmacology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

The first aim of this study was to observe the early changes of exocrine function and morphology after single large dose of irradiation on rat pancreas. In addition, the relationships among irradiated pancreas, hypertrophied pancreas and acute pancreatitis were investigated. Male Sprague-Dawley rats were used. Single irradiation was given using linear accelerator with 6 MeV electron beam, dose of 2000 cGy. Acute interstitial pancreatitis was induced by four subcutaneous injections of caerulein 20 μ g/kg at every hour. Camostat 200 mg. kg(i. g.) was administered for four days to induce pancreatic hypertrophy. The pancreas weight(g/100g B. W.) was increased after irradiation but tissue protein and amylase contents were decreased. The pancreatic juice volume were increased at 3 days and 1 week, and then normalized at 3 weeks after irradiation. The pancreatic juice volume, protein and amylase output were decreased in rats with caerulein induced acute pancreatitis. A decrement of the pancreatic juice volume in acute pancreatitis was larger in rats with irradiation than in rats without irradiation. Irradiation worsened the morphologic changes associated with caerulein induced pancreatitis, which were markedly noted at 1 week after irradiation. Camostat induced hypertrophied pancreas exhibited more severe morphologic changes in response to irradiation combined with caerulein. (Koren J Gastroenterol 1994;26 : 716-727)

Key Words: Exocrine pancreas, Irradiation, Acute pancreatitis, Caerulein

서 론

Roentgen이 X-ray를 발견한 이래로 100여년간 방

사선의 생물학적 효과에 대해서 세포에서 기관까지 그 기능 및 형태학적인 변화에 관하여 많은 연구가 되어왔다. X-ray는 분자의 이온화 작용을 나타내어 조직에서 수용성 유리기를 형성하여 세포내 여러 표적분자를 손상 시키거나¹⁾ 세포내 전위 변화를 일으켜 세포의 불활성화,²⁾ 세포분열 억제, 효소합성 억제를 유발하여 형태학적으로는 미토콘드리아 및 핵의 변화를 일으켜³⁾ 궁극적으로 세포괴사 및 섬유화 현상이 초래된다. 방사

접 수 : 1993년 2월 19일

본 논문은 1989년도 연세대학교 교수연구비의 보조로 이루어졌으며 1992년 5월 대한 외과학회 춘계 학술대회에서 발표되었음.

선 조사는 일반적으로 췌장의 외분비 기능을 저하시킨다고 알려져 있으며 만성 췌루와⁴⁾ 급성 췌장염의 치료와^{5, 6, 7)} 췌장의 동종 이식시 전처치등에 시도된 바 있다.⁸⁾ 최근 췌장 또는 그 주위장기에 발생한 암의 치료 목적으로 수술 중 혹은 체외에서 췌장 주위에 방사선을 조사할 기회가 많아지면서 췌장에 대한 방사선 조사 한계량과 이로 인한 외분비 및 내분비선의 기능과 형태학적 변화에 대해 산발적으로 보고되고 있으나 그 결과가 일치하고 있지 않다. Rauch 및 Stenstrom⁹⁾은 400-600 cGy(Co⁶⁰)를 조사하면 췌장액의 분비는 처음 15분간 증가하고 그후에는 감소하나 효소분비는 처음부터 감소하며 이 현상은 수일간 지속된다고 하였다. Volk 등¹⁰⁾은 개의 췌장에 5000-9000 cGy(Co⁶⁰) 조사하면 5~8일째 효소분비가 감소하나 21일째는 다소 회복된다고 하였다. 이러한 관찰에 반하여 Pieroni 등¹¹⁾은 역시 개의 췌장에 2400 cGy(Co⁶⁰)를 2주간 분한 조사하면 2주후 췌장액의 분비는 조사전에 비하여 40% 이상 증가하나 효소분비는 변동이 없다고 하였으며 시간이 갈수록 췌장 외분비 기능은 전반적으로 감소한다고 하였다. Ahmadu-suka 등¹²⁾도 개에서 1700-4000 cGy(LINAC) 방사선 조사량에 따라 초기에는 췌장효소 분비가 감소 혹은 증가되기도 하나 9일이 지나서는 계속 효소분비가 저하된다고 하였다. 방사선 조사로 인한 췌장 외분비기능의 후기변화는 대개 만성 췌장염 소견인 췌장액과 효소분비의 감소를 보인다.^{11, 12, 13)}

췌장의 방사선 조사로 인한 형태학적 변화로는 전자현미경 소견상 zymogen 과립의 크기와 수가 감소되며 Golgi기구의 변화가 나타나고 시간이 지남에 따라 선포세포의 감소 및, 위축 미만성 간질 섬유화, 췌관 상피세포의 증식 및 혈관손상이 나타나지만 췌소포 세포에는 거의 영향을 주지 않는다고 하였다.^{11, 14, 15)}

이와같이 방사선 조사는 췌장에 많은 손상을 유발시키는데 또다른 췌장손상의 주요기전인 과분비 자극성 급성 췌장염과 방사선과의 관계에 관하여서는 아직까지 밝혀지지 않았다. 실험적 췌장염은 담즙산, 알콜, 췌 효소등의 여러가지 물질의 췌관내 주입으로 쉽게 일으킬수 있으며 근래에는 cholecystokinin 유사물질인 caerulein을 최대분비 자극 용량 이상으로 주사하여 유발시키는 췌장염 모델이 많이 이용되고 있다.¹⁶⁾

¹⁹⁾ 과분비 자극으로 인한 췌장염의 기전으로는 아미

노산이나 단백질 합성과는 무관하게²⁰⁾ zymogen과립이 서로 융합하여 세포질내 공포를 형성하고 이것이 리소섬과 합쳐져 세포내 자가소화기전으로 췌장염을 일으키며²¹⁾ 또 이 과정에 있어 활성산서를 포함한 유리기가 중요한 역할을 한다는 의견이 제시되고 있다.^{22, 23)}

한편 비대된 췌장은 췌장내의 소화효소의 함량이 증가함으로 자가소화 기전에 의한 췌장염이 보다 잘 생길수 있다는 가능성이 최근 제시되고 있다. 따라서 본 실험에서는 방사선 조사후 초기에 나타나는 췌장의 외분비 기능 및 조직학적 변화를 관찰하고 나아가 방사선 조사가 췌장염 발생에 미치는 영향을 검색 하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험 동물

실험 동물로는 체중 200g내외의 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 사용 하였으며 실험전 일주일 이상 단백질 21.5%, 지방 3.5%, 칼슘 0.6% 이상이 함유된 시판 흰쥐용 표준 배합사료(삼양 사료사)로 동물실에서 사육한후 사용하였고, 췌장액 채취전 24시간동안 물을 제외하고는 금식을 시켰다.

2. 실험군

실험군은 크게 대조 실험군과 방사선 조사 실험군으로 나누었으며 이는 다음과 같이 세분 하였다.

1) 대조 실험군

(1) 대조군 : 각 실험군에 대한 연령 대조군(19마리)

(2) caerulein 췌장염 유발군 : caerulein(Bachem Co., Swiss)을 20 μ g/kg씩 1시간 간격으로 4회 피하 주사(6마리)

2) 방사선 조사 실험군

(1) 방사선 단독 조사군 : Secobarbital(30mg/kg, ip.)마취하에 정중 개복한뒤에 linear accelerator로 6 Mev electron beam 2000 cGy를 일시에 췌장에 조사하였다. 조사면의 크기를 직경 2cm로 하기위하여 1cm두께의 합금납 차폐판에 직경 2cm의 구멍을 내어 전자 cone에 부착하여 조사하였다. 아울러 주위장기 보호목적으로 2mm두께의 합금납판으로 electron beam을 차폐시켜 췌장에만 조사 되도록 하였다. (18마리)

(2) 방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군: 방사선 조사후 3일, 1주일 또는 3주일에 caerulein을 1시간 간격으로 4회 주사(15마리)

(3) Camostat 처치 및 방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군: camostat을 4일간 처치한 다음 방사선을 조사하고 3일, 1주일 또는 3주일에 caerulein을 1시간 간격으로 4회 주사(15마리). Camostat(Schwartz GmbH, Germant 및 일성신약 제공) 매일 200mg/kg 씩 4일간 경구투여.

3. 췌장액 채취

흰쥐를 urethane(1.25g/kg, s.c)으로 마취하고 고정판에 고정된 다음 원활한 호흡을 위해 기관내에 삽관한 후 내경정맥내에 polyethylene관을 삽입하여 약물주입에 사용하였다. 복부 중앙선을 절개한 후 담췌관에 polyethylene관을 삽입하고 담췌관의 근위부를 결찰하여 순수 췌장액을 채취 하였다.

췌장액은 30분 간격으로 채취하였으며 처음에는 기초분비를 그 다음은 secretin(Sigma Chemical Co., U.S.A: 0.5 CU/kg/hr) 자극분비를 마지막으로 secretin(0.5 CU/kg/hr) cholecystokinin octapeptide(Sigma Chemical Co., U.S.A; CCK-8600 ng/kg/hr) 동시 자극 분비를 채취 하였다.

췌장액 분비량은 미리 무게를 잰 실험관에 췌장액을 채취하여 측정 하였으며 채취한 췌장액은 분석 때까지 -70°C에 냉동 보관 하였다. 췌장액 채취후 췌장조직을 적출하여 무게를 측정 하였고 이 중 조직내 단백질 함량 측정에 uncinatase 일부만을 이용 하였다.

4. 췌장 효소의 분석

췌장 조직 및 췌장액내의 총 단백질 함량은 Lowry법²⁴⁾을 이용하여 측정 하였고 amylase 활성치는 전분 기질에서 유리 되는 maltose를 Bernfeld법²⁵⁾으로 측정하여 international unit(IU)으로 표시 하였다. 췌장 조직은 1mg당 10 μ l의 생리 식염수를 넣어 균질화 한 후 원심분리(2700 \times g)하여 상층액을 단백질 및 amylase 측정에 이용하였다.

5. 광학 현미경 표본 제작

적출한 췌장을 10% 포르말린 용액에 고정하고 파라핀에 모패하여 6m의 박절표본을 제작한 후 헤마톡

실린-에오진(H-E) 염색을 하였다.

6. 자료 분석

실험 자료는 평균 \pm 표준오차로 표시하였고 통계학적 분석은 Student's t-test와 2-factor analysis of variance를 사용하였으며, p값이 0.05 미만일 경우 의미가 있는 것으로 판정 하였다.

결 과

1. 췌장 무게

대조군의 체중에 대한 췌장의 무게 비율은 0.37 ± 0.01 g/100g B.W.이었으며 caerulein 췌장염 유발군에서는 0.41 ± 0.01 로 췌장 무게비율이 유의 있게 증가하였다. 방사선 단독 조사군은 방사선 조사 1주일후 0.45 ± 0.03 으로 증가 하였으나 3일째와 3주째에는 대조군과 차이가 없었다(Table 1).

방사선 조사후 caerulein 처치로는 방사선 단독 처치와 별 차이가 없었으며 방사선 단독 처치와 별 차이가 없었으며 방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군의 경우 camostat을 전 처치하면 각각 방사선 조사 3일째, 1주일째에는 췌장 무게 비율이 증가 하였지만 3주째는 차이가 없었다(Fig. 1).

2. 조직내 단백질 및 amylase 함량

대조군의 조직내 단백질 함량은 30.6 ± 1.3 mg/100g B.W.이었으며 caerulein 췌장염 유발군은 대조군에 비하여 뚜렷한 차이가 없었다. 방사선 단독 조사군은 대조군에 비해 조직내 단백질 함량이 감소하는 경향을 나타내었는데 1주째에 23.8 ± 4.1 로 가장 크게 감소 하였다(Table 1).

방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군의 경우 camostat을 전 처치하면 방사선 조사 3일째에는 조직내 단백질 함량이 증가 되어 있었으나 1주 및 3주째에는 차이가 없었다(Fig. 2).

대조군의 조직내 amylase 함량은 각각 $2.80 \pm 0.18 \times 10^3$ IU/100g B.W.이었으며 caerulein 췌장염 유발군도 amylase의 조직내 함량이 증가하는 경향을 나타내었다 방사선 단독 조사군은 대조군에 비하여 amylase 함량이 3일째부터 감소하여 1주일째에 1.39 ± 0.51 로 가장 많이 감소 하였으며 3주째에는 대조군과 별 차이

Table 1. Changes of Pancreatic Weight and Tissue Protein and Amylase Content

	Panc. Weight		Tissue Content	
	g/100g B.W.	Protein mg/100g B.W.	Amylase x10 ³ IU/100gB.W.	
Control	0.37 ± 0.01	30.6 ± 1.3	2.80 ± 0.18	
Caerulein	0.41 ± 0.01*	33.1 ± 1.2	3.70 ± 1.12	
3 days	0.40 ± 0.01	29.5 ± 1.8	1.76 ± 0.35**	
Radiation 1 Week	0.45 ± 0.03**	23.8 ± 4.1*	1.39 ± 0.51**	
3 Weeks	0.38 ± 0.02	25.9 ± 2.5	2.28 ± 0.32	

Valuse are means ± S.E.

Caerulein : Acute Pancreatitis is induced by total four subcutaneous injection of 20 µg/kg body weight of caerulein at hourly interval over 3 hours.

Radiation : Radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

*P < 0.05, **p < 0.01 : Difference from control

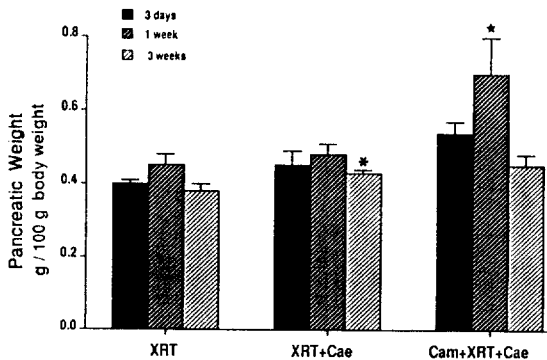


Fig. 1. Changes of pancreatic weight irradiation
 XRT : radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.
 XRT : Cae: 20 µg/kg of caerulein is injected subcutaneously four times after irradiation.
 Cam+XRT+Cae: Caerulein is injected after irradiation on the hypertrophied pancreas. by camostat (200 mg/kg/day, intradiation for 4 days)
 3 days, 1 week, 3 weeks: Duration after irradiation
 *p < 0.05: Difference between XRT and XRT + Cae
 *p < 0.05: Difference between XRT and Cae Cam+XRT+Cae

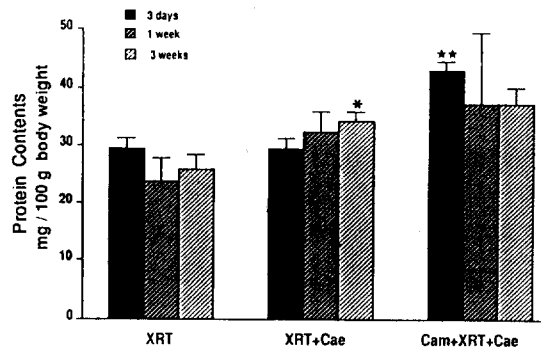


Fig. 2. Changes of rotein contents in pancreatic tissue after irradiation
 XRT : Radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.
 XRT : Cae: 20 µg/kg of caerulein is injected subcutaneously four times after irradiation.
 Cam+XRT+Cae: Caerulein is injected after irradiation on the hypertrophied pancreas. by camostat (200 mg/kg/day, intradiation for 4 days)
 3 days, 1 week, 3 weeks: Duration after irradiation
 *p < 0.05: Difference between XRT and XRT + Cae
 **p < 0.05: Difference between XRT and Cae Cam+XRT+Cae

가 없었다(Table 1). Caerulein 췌장염 유발군에 비하여 방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군에서 역시 조직내 amylase의 함량이 3일, 1주째에 많이 감소하였고 3주째에는 회복 되는 경향을 나타냈다. 방사선

조사후 caerulein 췌장염 유발군의 경우 camostat을 전 처치하면 방사선 조사후 3일째 조직내 amylase 함량이 각각 증가 하였으나 1주, 3주째는 차이가 없었다(Fig. 3).

Table 2. Changes of Secretory Volume

	Volume(ul/hr/100g)		
	Basal	Secretin	Secretin + CCK
Control	19.4 ± 2.8	59.5 ± 7.0	128.8 ± 13.3
Caerulein	14.9 ± 4.1	67.8 ± 14.3	72.7 ± 18.6*
3 days	97.2 ± 19.7**	175.2 ± 21.6**	253.9 ± 13.7**
Radiation 1 week	37.2 ± 11.9*	132.2 ± 23.5**	191.1 ± 23.5*
3 weeks	20.9 ± 4.9	63.2 ± 8.4	99.5 ± 15.2

Value are means ± S.E.

Secretin(0.5CU/kg/hr)with or without CCK-8(600ng/kg/hr)was infused i. v.

Caerulein : Acute pancreatitis is induced by al total four subcutaneous injection of 20 µg/kg body weight of caerulein at hourly interval over 3 hours.

Radiation : Radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

*p<0.05, **p<0.01 : Difference from control

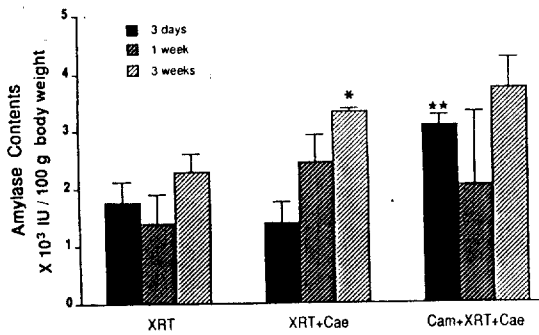


Fig. 3. Changes of amylase contents in pancreatic tissue after irradiation

XRT : Radiation id performed using 6 MeV elecron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

XRT : Caer:20 µg/kg of caerulein is injected subcutaneously four times after irradiation.

Cam+ XRT+Caer:Caerulein is injected after irradiation on the hypertrophied pancreas. by camostat(200 mg/kg/day, intradiation for 4 days)

3 days, 1 week, 3 weeks:Duration after irradiation

*p<0.05:Difference between XRT and XRT +Caer

*p<0.05:Difference between XRT and Caer Cam+ XRT+Caer

3. 췌장액 분비량

대조군의 췌장액 분비량은 기초 분비시 19.4 ± 2.8 L/hr/100g B.W., secretin자극분비시 59.5 ± 7.0, secretin 및 CCK 동시 자극 분비시 128 ± 13.3이었다.

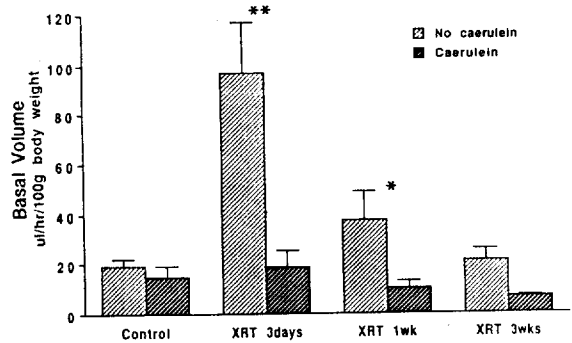


Fig. 4. Changes of basal secretoty volume of pancreatic juice after irradiation and caerulein injection

XRT : Radiation id performed using 6 MeV elecron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

Caerulein : Acute Pancreatitis is induced by a total four:20 µg/kg of caerulein is injected subcutaneously four subcutaneous injection of 20µg/kg body weight of caerulein at hoterval over 3 hours.

3 days, 1 week, 3 weeks:Duration after irradiation

*p<0.05** p<0.01:Difference from secretory volume of pancreatic juice after after induction of pancreatitis by caerulein injection

Caerulein 췌장염 유발군은 기초 분비및 secretin 자극 분비는 대조군과 별 차이가 없었으나 secretin과 CCK 동시 자극시는 72.7 ± 18.6으로 대조군에 비하여 의의 있게 감소 하였다. 방사선 단독 조사군은 3일째 와 1주일째에 대조군에 비하여 기초분비, 자극분비 모

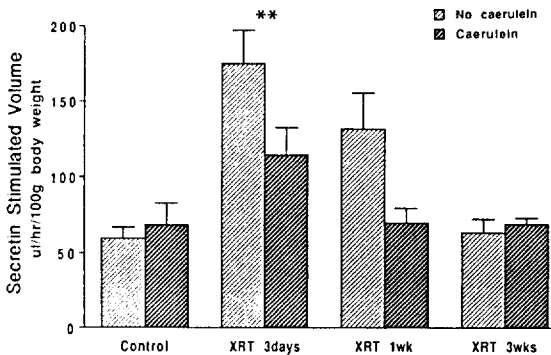


Fig. 5. Changes of secretin-stimulated secretory volume of pancreatic juice after irradiation and caerulein injection

XRT: Radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

Caerulein: Acute Pancreatitis is induced by a total four subcutaneous injection 20 µg/kg body weight of caerulein at hourly interval over 4 hours.

3 days, 1 week, 3 weeks: Duration after irradiation

*p<0.01: Difference from secretory volume of pancreatic juice after induction of pancreatitis by caerulein injection

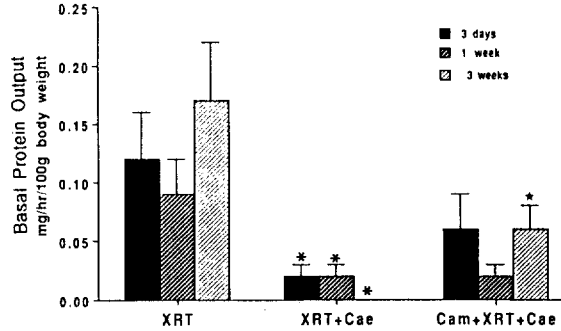


Fig. 6. Changes of basal protein output after irradiation

XRT: Radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

XRT+Caerulein: 20 µg/kg of caerulein is injected subcutaneously four times after irradiation.

Cam+XRT+Caerulein: Caerulein is injected after irradiation on the hypertrophied pancreas by comostat (200mg/kg/day, intragastric administration for 4 days)

3 days, 1 week, 3 weeks: Duration after irradiation

*p<0.05: Difference between XRT and XRT+Caerulein

*p<0.05: Difference between XRT+Caerulein and Cam+XRT+Caerulein

Table 3. Changes of Protein Output

	Protein(mg/hr/100g B.W.)		
	Basal	Secretin	Secretin+CCK
Control	0.15 ± 0.03	0.26 ± 0.05	1.69 ± 0.26
Caerulein	0.03 ± 0.01*	0.07 ± 0.02*	0.20 ± 0.06**
3 days	0.12 ± 0.04	0.09 ± 0.03	1.42 ± 0.46
Radiation 1 week	0.09 ± 0.03	0.09 ± 0.01	1.54 ± 0.27*
3 weeks	0.17 ± 0.05	0.23 ± 0.03	0.94 ± 0.21

Value are means ± S.E.

Secretin(0.5CU/kg/hr)with or without CCK-8(600ng/kg/hr)was infused i. v.

Caerulein: Acute pancreatitis is induced by a total four subcutaneous injection of 20 µg/kg body weight of caerulein at hourly interval over 3 hours.

Radiation: Radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

*p<0.05, **p<0.01: Difference from control

두 췌장액 분비량이 증가 하였으며 특히 secretin 자극에 의한 분비량 증가가 대조군 보다 현저 하였다. (Table 2). 방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군은 정상 흰쥐에서 caerulein으로 췌장염을 일으킬때 보다

기초 분비 및 secretin 자극분비에서 췌장액 분비량 감소가 더욱 현저 하였다(Fig. 4,5)

secretin 및 CCK 동시 자극분비 1.69 ± 0.26 이었으며 caerulein 췌장염 유발군에서는 기초 및 자극

Table 4. Changes of Amylase Output

	Amylase(IU/hr/100g B.W.)		
	Basal	Secretin	Secretin+CCK
Control	91 ± 13	237 ± 34	778 ± 89
Caerulein	34 ± 11*	99 ± 23*	238 ± 85**
3 days	189 ± 75*	253 ± 140	1071 ± 177
Radiation 1 week	73 ± 22	103 ± 16*	812 ± 126
3 weeks	106 ± 30	255 ± 27	600 ± 98

Valuse are means ± S.E.

Secretin(0.5CU/kg/hr)with or without CCK-8(600ng/kg/hr)was infused i. v.

Caerulein : Acute pancreatitis is induced by al total four subcutaneous injection of 20 µg/kg body weight of caerulein at hourly interval over 3 hours.

Radiation : Radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

*p<0.05, **p<0.01 : Difference from control

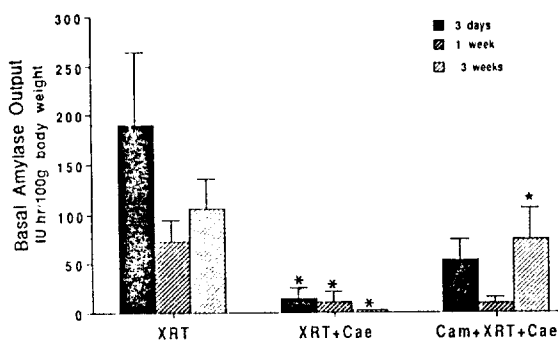


Fig. 7. Changes of basal amylase output after irradiation

XRT : Radiation is performed using 6 MeV electron beams linear accelerator, single dose of 2000 cGray on the exposed pancreas.

XRT : Cae:20 µg/kg of caerulein is injected subcutaneously four times after irradiation.

Cam+XRT+Cae:Caerulein is injected after irradiation on the hypertrophied pancreas. by camostat(200 mg/kg/day, intradiation for 4 days)

3 days, 1 week, 3 weeks:Duration after irradiation

*p<0.05:Difference between XRT and XRT +Cae

*p<0.05:Difference between XRT and Cae Cam +XRT+Cae

분비 모두에서 총 단백 분비량이 감소하였다.

4. 단백 분비량

대조군의 총 단백 분비량은 기초분비 0.15 ± 0.03 mg/hr/100g B.W. secretin 자극분비 0.26 ± 0.05, 방

Fig. 8. Photmicrograph of pancreas 3 days after irradiation interstitial edema between lobules is well observed(H&E stain, × 40).

사선 단독 조사군의 경우 췌장액 분비량 변동과는 다르게 총 단백 분비량이 모든 시점에서 대조군에 비하여 차이가 없었다.

(Table 3). 방 조사후 caerulein췌장염 유발군은 방사선 단독 조사군보다 기초및 자극 분비 모두 모든 시점에서 단백 분비량이 감소하는 경향을 나타내었다. 방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군에서 comostat 전처치를 할경우 기초및 자극 분비 모든 시점에서 단백분비량이 증가 하는 경향을 나타내었다(Fig. 6).

5. Amylase 분비량

대조군의 amylase 분비량은 기초분비 91 ± 13 IU/hr/100g B.W. 이고 secretin 자극분비 237 ± 34,secretin및 CCK 동시 자극 분비는 778 ± 89이었으며

Fig. 9. Photmicrograph of rat pancreas 1 week after irradiation condensation of acinar cell nucleus, vacuolar degeneration of cytoplasm, and necrosis of some acinar cells are observed(H & E stain, $\times 200$).

Fig. 11. Photmicrograph of rat pancreas in which pancreatitis is induced by caerulein injection 1 week after irradiation shows vacuolar degeneration of acinar cell cytoplasm is more marked than in pancreas after irradiation alone(H&E stain, $\times 400$).

Fig. 10. Photmicrograph of rat pancreas in which pancreatitis is induced by caerulein injection shows interstitial edema between lobules vacuolar degeneration of acinar cell cytoplasm are demonstrated(H&E stain, $\times 200$).

Fig. 12. Photmicrograph of rat pancreas in which pancreatitis is induced by caerulein injection after irradiation on hypertrophied pancreas by camostat administration shows vacuolar degeneration of acinar cell and local cellular necrosis are observed(H & E stain, $\times 200$).

caerulein 처치를 할 경우는 기초 및 자극 분비 모두에서 amylase 분비량이 감소 하였다. 방사선 단독 조사군에서 amylase 분비량은 전반적으로 대조군에 비하여 큰 차이가 없었다(Table 4). 방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군은 방사선 단독 조사군에 비하여 amylase 분비량이 대체로 감소하는 경향을 나타내었고, 방사선 조사후 caerulein 췌장염 유발군에서 camostat을 전처치할 경우 3주째에 amylase 분비량이 증가 하였다(Fig. 7).

6. 조직학적 소견

방사선 조사후 췌장의 광학 현미경적 소견은 소엽사이의 간질내 부종 및 울혈이 관찰 되었고(Fig. 8)주로핵의 농축, 세포질의 공포변성, 선 세포의 위축 및 세포괴사등이 관찰 되었다. 이러한 변화는 방사선 조사 후 3일째부터 관찰 되었으며 1주일째 가장 심하였고 재생되는 과정인 이해 세포등도 관찰 되었다(Fig. 9).

정상 흰쥐췌장에서 caerulein으로 췌장염 유발시 특징적으로 소엽 사이의 간질내 부종, 세포질의 공포 변성, 조사된 췌장에 염증세포 침윤 및 국소 괴사조건이 관찰 되었다(Fig. 10). 방사선 조사된 췌장에 caerulein 췌장염 유발시 방사선 단독 조사나 정상 흰쥐에서 caerulein 췌장염 유발시의 췌장염 소견보다 심한 조직 손상을 나타내었다(Fig. 11). Camostat으로 비대해진 췌장에 방사선 조사 및 caerulein 췌장염 유발시 camostat 처치하지 않은 췌장에서 보다 심한 간질내 부종, 선 세포괴사 및 세포질 공포 변성, 효소성 세포괴사(enzymatic cell necrosis) 등이 관찰되었다(Fig. 12).

고 찰

방사선 세포내 표적분자에 작용하여 세포를 불활성화 시키거나,^{1,26)} 이의 이온화 효과로 세포내 작은 분자 특히 물분자에 작용해 수용성 유리기를 형성하여 세포에 손상을 준다. 특히 포유 동물의 조직 성분 중 80%는 수분이므로 방사선 조사로 인한 세포 손상은 주로 수용성 유리기 때문이라고 알려져 있다.¹⁾ 이러한 세포 손상의 결과 DNA, RNA 파괴, 복제 작용 장애, 세포분열 장애, 염색체 이상 등이 초래되어 결국 세포 괴사에 이르게 된다. 형태학적으로 초기에는 핵 농축, 핵 파괴와 같은 핵의 변화가 먼저 관찰되고 이어서 세포질의 부종 및 공포 변성이 초래되며, 후기에는 세포 괴사로 인한 실질세포의 손실 및 섬유조직 대치 등의 소견과 이에 따른 기능 변화가 나타난다. 췌장은 방사선에 대해 비교적 내성이 큰 장기로 알려져 있고 그 중에서 췌 세포는 특히 방사선 내성이 크다고 한다. 같은 외분비선인 타액선에 비하여도 췌장은 방사선 내성이 커서,²⁷⁾ 전신 방사선 조사 후에 나타나는 고 amylase 혈중도 주로 타액선 amylase 때문이라고 한다.²⁸⁾ 방사선 조사 후 췌장 외분비 기능에 대한 연구 결과는 방사선 조사량과 방법에 따라 다소 차이가 있지만, 후기 변화는 일반적으로 췌장액 및 효소 분비량이 점차 감소하여 만성 췌장염 소견을 보이며 형태학적으로도 선세포 위축 및 심한 간질내 섬유화를 보인다.¹¹⁾ 외분비 기능의 조기 변동에 대한 보고는 그 결과가 일정하지 않다. 과거에는 방사선 조사 후 췌장액 및 효소 분비가 감소한다고 하여^{29,30)} 여러 임상 치료 즉 췌루, 급성 췌장염, 동종 췌장 이식전등에 방사선 치

료가 시도 되었다.^{4,5,7,80)} 그러나 동물 실험에서 방사선 조사 후 2주 동안 췌장액 분비는 일시적으로 감소하지만 효소 분비는 계속 감소한다.⁹⁾ Pieroni 등은¹¹⁾ 개 췌장에 2주에 걸쳐 2000cGY 외부 방사선 조사 후 1일부터 7일, 1주부터 28주까지 외분비 기능을 관찰하였는데 방사선 조사 2주째 기초 췌장액 분비량이 40% 이상 증가하고 secretin과 CCK 자극 분비량이 증가하며 이러한 현상은 수일내 정상으로 돌아왔다가 점차 시간이 가면서 감소 한다고 하였다.

본 실험에서도 흰쥐 췌장에 방사선 조사 후 3일, 1주째 기초 및 자극 분비시 췌장액 분비량이 증가하였고 3주째는 회복됨을 볼 수 있었다. 이러한 췌장액의 과분비 상태는 방사선 조사 이외에 여러 병적인 상태 즉 간경변증, 혈색소증, Zollinger-Ellison 증후군 등의 상태에서 관찰되며 이 경우 secretin에 대한 반응도 역시 증가 한다 한다.³¹⁾ 이러한 현상은 secretin에 대한 췌관세포의 감수성이 증가 되었거나 세포수가 증가 되기 때문인 것으로 알려져 있으며^{11,31)} 본 실험에서도 대조군에 비해 방사선 조사군에서 secretin에 대한 췌장액 분비반응이 항진된 것을 볼 수 있었다. 그러나 방사선 조사에 의한 십이지장 점막 손상으로 secretin이 많이 유리되었기 때문일 가능성도 배제할 수 없다.

본 실험에서 췌장 효소 분비는 방사선 조사 후 3주까지는 별 변화를 볼 수 없었다. 이는 개에서 방사선 조사 후 PABA test를 이용하여 간접적으로 췌장 외분비 기능을 측정 한 결과 9일째부터 효소 분비가 계속 감소한다는 Ahmadu-suka 등¹²⁾의 보고와는 달랐다. 이러한 차이는 동물 종간의 차이, 방사선 조사량의 차이 때문일 수도 있지만 본 실험의 관찰 기간이 짧았기 때문이라고 사료 된다.

방사선 조사 후 췌장 조직내 소화효소의 함량은 3일째부터 감소하기 시작하여 1주일째 가장 심하게 감소하였고 3주째 다소 증가하는 경향을 보였다. 이러한 현상은 방사선 조사로 초기에 췌장내 단백질 합성이 급격히 저하 되었기 때문인 것으로 보이며³²⁾ 시간이 경과 되면서 점차 세포가 손상에 대하여 적응하고 재생 세포들의 출현 등에 의해 회복 되는 것으로 생각된다.

형태학적인 변화로 Volk 등¹⁰⁾은 췌장에 방사선 조사 후 5일에서 8일 사이에 가장 심한 변화 즉 핵의 변화 및 세포질 공포 변성 등의 변화가 초래된다고 하였고 3주째 다소 회복이 된다고 하였다. 서는³³⁾ 흰쥐의 타액

선에 방사선을 조사한 결과 3일째부터 세포손상 소견이 관찰되며 1주일째 가장 심하여 핵 농축 선 세포 위축, 공포 변성 기질내의 염중세포 침윤 및 섬유조직의 증식을 볼수 있었다고 한다. 본 실험에서도 방사선 조사후 3일째부터 손상이 관찰 되었고 7일째에 간질내 부종 및 출혈이 가장 심했으며 핵 농축, 세포질 공포 변성 또한 죽어가는 세포 및 재생되는 세포가 동시에 관찰 되었다. 3주째에 부종과 출혈은 가라 앉았지만 기존의 형태학적인 변화는 계속 관찰 되었다. 이와같이 방사선 조사는 췌장에 많은 손상을 유발 시키는데, 또 다른 췌장 손상의 주요기전인 과분비 자극성 급성 췌장염과 방사선의 관계에 관하여는 아직까지 알려진 바가 없다. 실험적 췌장염은 췌관내 담즙, 알콜, trypsin 등의 투여로 유발 시킬수 있으며^{34, 35)} 최근에는 caerulein을 최대자극 용량 이상을 투여하는 실험적 모델이 많이 이용되고 있다. Caerulein은 cholecystokinin과 유사 peptide로³⁶⁾ 1 μ t/kg의 용량으로 투여시 췌장액 및 효소 분비가 증가 되지만³⁷⁾ 5 μ g/kg의 과량으로 투여하면 흰쥐, hamster등에서 실험적 췌장염이 유발되고 췌장액 및 효소분비가 급격히 감소한다.

16-19, 36)

Caerulein을 최대 자극용량 이상으로 투여하면 zymogen과립과 세포막 사이에 장애가 생기고³⁹⁾ 선 세포내 zymogen과립이 세포 기저부포 이동하며^{17, 19)} zymogen과립이 서로 융합하여 커다란 공포를 형성하면서 기저막과 융합간질내를 소화효소가 분비되어 자가소화 작용이 일어나거나 췌장염이 발생하는것으로 보고있다.³⁹⁾ 아울러 zymogen 과립끼리 융합된 공포가 리소솜과 융합하여 자가소화 작용을 더욱 촉진 할 수도 있다.^{20, 27)}

한편 최근에는 급성 췌장염의 병리기전에 있어 활성산소의 중요성이 대두되고 있으며 caerulein유발 췌장염도 조직내 superoxide dismutase나 catalase를 감소시켜 활성산소의 세포 독작용을 초래한다고 보고되고 있다.^{22, 23)} 본 실험에서도 caerulein을 과량 투여시 췌장 외분비 기능의 급격한 저하와 조직학적으로도 간질내에서 심한 부종 및 세포질내 공포변성등을 관찰 할 수 있었다.

따라서 방사선 조사와 급성 췌장염과의 관계는 두가지 상반된 측면에서 생각해 볼수 있다. 즉 방사선을 조사받은 췌장은 조직내 소화효소 함량이 감소 되어

있으므로 자가소화 작용이 저하되어 급성 췌장염의 정도가 보다 약할수 있는 반면, 방사선의 주된 세포 손상 기전도 활성산소를 포함한 유리기에 의한 것이므로 방사선 조사된 췌장은 caerulein으로 췌장염을 유발시켰을 경우 그 기능 및 형태학적인 변화가 더욱 심한 것을 관찰 하였으며 이로 미루어 볼때 방사선 조사와 급성 췌장염과의 관계는 전자보다 후자의 영향이 더 큰것으로 생각 된다. 한편 비대된 췌장은 조직내 효소 함량도 증가된 상태에 있어 급성 췌장염이 더 잘 생기며 심하게 올수 있다는 가능성이 제시 되고 있다. 췌장의 비대는 trypsin 억제제인 camostat의 경구 투여로 유발 시킬수 있는데⁴⁰⁻⁴²⁾ 이의 주된 기전은 내인성 CCK 분비항진이라고 알려져 있다.⁴³⁾ 본 실험에서 camostat으로 비대된 췌장에 방사선 조사후 caerulein으로 췌장염을 유발하면 비대되지 않은 췌장보다 조직학적으로 세포괴사, 세포질 공포변성등이 보다 심하게 관찰 되었다. 따라서 camostat으로 비대된 췌장이 방사선 조사 및 caerulein 췌장염 유발시 보다 심한 변화가 온다는 상기가설을 뒷받침하는 소견으로 여겨진다. 그러나 효소분비량은 다소 증가 하였는데 이는 기능이 향상되었다기 보다는 이미 존재하는 췌장의 비후 때문이라고 생각된다. 이번 실험의 결과를 종합해 보면 흰쥐 췌장에 일시에 대량의 방사선 조사후 외분비 기능의 초기 변화는 췌장액 분비량의 항진이 주요 소견이며 이 기전은 향후 보다 연구가 필요할것으로 사료된다. 아울러 방사선 조사로 이미 췌장이 손상 받은 상태에서 실험적 췌장염 유발시 외분비 기능의 저하가 더 심하며 형태학적으로도 보다 심한 변화가 오는 것이 관찰 되었고 이의 기전을 활성산소를 포함한 유리기와 관련지어 추가검색이 이루어져야 할것으로 생각한다.

요 약

방사선 조사후 초기에 나타나는 췌장 외분비 기능 및 조직학적 변화를 관찰하고 나아가 방사선 조사가 췌장염 발생에 미치는 영향을 검색하여 다음의 결론을 얻었다.

1) 흰쥐 췌장에 방사선을 조사하면 대조군에 비하여 췌장의 무게는 증가하지만 조직내 단백질 amylase 함량은 감소 하였으며 caerulein 투여에 의해 췌장염이 유발된 경우 췌장의 무게가 증가하였다.

2) 췌장액 분비량은 방사선 조사후 3일 및 1주일째

에는 대조군에 비해 증가 하였으나 3주일째에는 비슷하였다. 그러나 총 단백 분비량과 amylase 분비량은 전 시기에 걸쳐 대조군과 별 차이가 없었다.

3) 정상 흰쥐와 방사선 조사된 흰쥐에 caerulein을 투여하여 췌장염을 유발 시키면 췌장액 분비량 및 amylase와 단백 분비량이 모두 감소 하였으며 방사선 조사후 3일, 1주일째에는 정상 흰쥐보다 췌장액 분비량이 더욱 감소 하였다.

4) 방사선 조사후 췌장 조직의 광학 현미경적 소견은 소엽의 간질내 부종, 핵의 농축, 세포질의 공포 변성, 선세포의 위축등이 관찰 되었으며 이러한 변화는 방사선 조사 1주째 가장 심하였다. 방사선 조사후 caerulein 췌장염을 유발 시키면 더 심한 조직 손상이 나타나고 camostat을 투여하여 비대된 췌장에 방사선 조사 및 caerulein 췌장염 유발시 보다 심한 손상이 관찰 되었다.

이상의 결과로 보아 흰쥐 췌장에 대량의 방사선을 일시에 조사하면 초기 변화로 췌장액 분비량의 항진 및 조직내 단백과 amylase 함량이 감소하며 아울러 방사선을 조사받은 췌장 및 비대된 췌장염 유발시 더 심한 손상이 초래됨을 알수 있었다.

참 고 문 헌

- 1) Little JB : *Cellular effects of ionizing radiation. N Eng J Med* 278 : 308, 1968
- 2) Ellinger FP : *Medical radiation biology. Charles C Thomas, springfield III* p945, 1957
- 3) Hollaender A : *Radiation Biology McGraw-Hill book Co New York, 1954*
- 4) Miller EB : *Some effects of deep X-ray therapy on the pancreas and on external pancreatic fistula in man. Report of case. Grace Hosp Bull Detroit* 28 : 29, 1950
- 5) Chrisholm TC, Seibel RE : *Acute pancreatitis; An experimental study with special reference to X-ray therapy. Surg Gyn Obst* 85 : 794, 1947
- 6) Morton JJ, Widger S : *The diagnosis and treatment of acute pancreatitis. Ann Surg* 111 : 851, 1940
- 7) Wachfeidl V, Vitez M : *X-ray therapy for acute pancreatitis. Am J Surg* 116 : 853, 1968
- 8) Merkel FK, Kelly WD, Goetz FC, Maney J : *Irradiated heterotopic segmental canine pancreatic allografts. Surgery* 63 : 291, 1968
- 9) Rauch RF, Stenstrom KW : *Effects of X-ray irradiation on pancreatic function in dogs. Gastroenterology* 20 : 595, 1952
- 10) Volk BW, Welleman KF, Lewitan A : *The effect of irradiation on the fine structure and enzymes of the dog pancreas: short term studies. Am J Pathol* 48 : 721, 1966
- 11) Pieroni PL, Rudick J, Adler M, et al. : *Effect of irradiation on canine exocrine pancreas. Ann Surg* 184 : 610, 1976
- 12) Ahmadu-suka F, Gillette L, Withrow SJ, Husted PW, Nelson AW, Whiteman CE : *Exocrine pancreatic function following intraoperative irradiation of the canine pancreas. Cancer* 62 : 1091, 1988
- 13) Welleman KF, Volk BW, Lewitan A : *The effect of radiation on the fine structure and enzyme content of the dog pancreas. Lab Invest* 15 : 1007, 1966
- 14) Du toit DF, Heydentrych JJ, Smit B, Zuurmond T, et al. : *The effect of ionizing radiation on the primate pancreas: An endocrine and morphologic study. J Surg Oncol* 4 : 43, 1987
- 15) Zook BC, Bradley EW, Rogers CC : *Pathologic effects of fractionated neutrons on the pancreas, pylorus and duodenum of dogs. Int J Radiat Oncol Biol Phys* 9 : 1493, 1983
- 16) Adler G, Hupp T, Kern HF : *Course and spontaneous regression of acute pancreatitis in the rat. Vichow's Arch A Pathol Anat Histol* 382 : 32, 1979
- 17) Lample M, Kern HF : *Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of pancreatic secretagogue. Virchow's Arch A Pathol Anat Histol* 373 : 97, 1977
- 18) Renner IG, Wisner JR, Rinderknecht H, Kilburn RH : *Lung pathology in hamsters with experimentally induced acute pancreatitis. Clin Res* 31 : 33A, 1982
- 19) Renner IG, Wisner JR, Rinderknecht H : *The protective effects of exogenous secretin on caerulein induced acute pancreatitis in the rat. J Clin Invest* 72 : 1081, 1983
- 20) Saluja A, Saito I, Saluja M et al : *In vivo rat pancreatic acinar cell function during supramaximal stimulation with caerulein. Am J Physiol* 249 :

- G702, 1985
- 21) Watanabe O, Baccino FM, Steer ML, Meldolesi J : *Supramaximal caerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatic acinar cell: early morphological changes during development of experimental pancreatitis. Am J Physiol* 246 : G457, 1984
 - 22) Dabroski A, Siematkowska U, Chyczewski L : *Oxygen derived free radicals in caerulein induced acute pancreatitis. Scand J Gastroenterol* 23 : 1245, 1988
 - 23) Schoenberg MH, Buechler M, Gaspar M et al : *Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. Gut* 31 : 1138, 1990
 - 24) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RL : *Protein measurement with Folin phenol reagent. J Biol Chem* 193 : 265, 1951
 - 25) Bernfeld P : *Amylase a and b. In methods in Enzymology. Vol.1, Academic press, pp 149, 1955*
 - 26) Lea DE : *Action of radiations on Living cells. New York, Macmillan. 1947*
 - 27) Lacassagne A, Gricourouff G : *Action of radiation on tissues. An introduction to radiotherapy. Gune and Stratton, Newyork and London, 1958*
 - 28) Hennequin C, Cosset JM, Cailleux PE, et al. : *Blood amylase; a biological marker in irradiation accidents? Bull Cancer (paris)* 76 : 617, 1989
 - 29) Kmietowicz F, Tumidajski J : *L'activation des profermants par les rayons. C R Soc Biol (paris)* 92 : 380, 1925
 - 30) Orndoff BH, Farrell JI, Ivy AC : *Studies on the effect of roetgen rays on the glandular activity vs. the effect of roentgen rays on the external pancreatic secretion. Am J Roentgenol Radium Ther* 16 : 349, 1926
 - 31) Dreiling DA, Greenstein AJ, Bordalo O : *The hypersecretory state of the pancreas: implications in the pathophysiology of pancreatic inflammation and the pathogenesis of paptic ulcer diathesis. Am J Gastroenterol* 59 : 505, 1973
 - 32) Pollard : *The action of ionizing radiation on the cellular synthesis of protein: The initial effects of ionizing radiation on cells. Harris RJC (ed.) Academic press, London and New York. p75, 1961*
 - 33) 서장수 : *Dexamethasone 투여가 방사선 조사에 의한 타액선 손상에 미치는 영향에 관한 형태학적 연구. 연세의 대학위논문집* 20 : 299, 1987
 - 34) 김경환 : *실험적 췌장염으로 인한 췌외분비 기능의 조기 변화에 관한 연구. 대한의학협회지* 16 : 973, 1973
 - 35) 홍사석 : *췌장의 외분비 생리. 대한내과학회 잡지* 18 : 329, 1975
 - 36) Dockray GJ : *The action of secretin, cholecystokinin-pancreozymin and caerulein on pancreatic secretin in the rat. J Physiol* 225 : 679, 1972
 - 37) Varga G, Dobronyi I, Papp M : *Time-specific development of pancreatic hypersecretory capacity during caerulein treatment in rats. Scand J Gastroenterol* 24 : 565, 1989
 - 38) Otsuki M, Tani S, Okabayashi Y, et al. : *Beneficial effects of the synthetic trypsin inhibitor camostat in caerulein induced acute pancreatitis in rats. Dig Dis Sci* 35 : 242, 1990
 - 39) Adler G, Rohr G, Kern HF : *Alteration of membrane fusion as a cause of acute pancreatitis in the rat. Dig Dis Sic* 27 : 993, 1982
 - 40) Beswick IP, Pirola RC, Bouchier IAD : *The cause of pancreatic enlargement in rats treated with soybean diet. Scand J Gastroenterol* 9 : 679, 1974
 - 41) Goeke B, Printz H, Koop I : *Endogenous CCK release and pancreatic growth in rats after feeding a proteinase inhibitor (camostat). Pancreas* 1 : 509, 1986
 - 42) 김학산, 김경환, 주일로, 안영수, 홍사석 : *생콩을 첨가 사육한 흰쥐의 이자 췌외분비 기능 및 구조에 관한 연구. 대한소화기병학회지* 22 : 939, 1990
 - 43) Green GM, Lyman RL : *Feedback regulation of pancreatic enzyme secretion as a mechanism for trypsin inhibitor induced hypersecretion in rats. Proc Soc Exp Biol Med* 1409 : 6, 1972