



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 박 사 학 위 논 문

방사선 조사 흰쥐에 대한
스테비아의 방호효과



2019년 8월

부경대학교 일반대학원

식품생명과학과

손 은 주

이 학 박 사 학 위 논 문

방사선 조사 흰쥐에 대한
스테비아의 방호효과

지도교수 류 은 순

이 논문을 이학박사 학위논문으로 제출함.



2019년 8월

부경대학교 일반대학원

식품생명과학과

손 은 주

손은주의 이학박사 학위논문을
인준함.

2019년 8월



주심 농학박사 남택정 (인)

위원 약학박사 최재수 (인)

위원 의학박사 김미경 (인)

위원 이학박사 정도영 (인)

위원 이학박사 류은순 (인)

목 차

Abstract

I. 서론	1
II. 이론적 배경	4
1. 방사선의 생물학적 작용	4
2. 물의 방사선화학	5
3. 자유라디칼 및 항산화작용	7
4. 스테비아	8
가. 스테비아의 대체감미료 효능	8
나. 스테비아의 항산화 활성	11
다. 스테비아의 항산화 기전	12
5. 연구목적	16
III. 재료 및 방법	18
1. 실험재료	18
가. 실험동물 준비 및 사육	18
나. 실험군 편성	19
다. 스테비아 준비	21
라. 시약 및 기기	22
2. 실험방법	23
가. 시료투여	23
나. 방사선조사	23
다. 시료채취	23
라. 체중측정	24
마. 혈구 성분 측정	24

바. 초과산화물불균등화효소(SOD, superoxide dismutase) 측정	24
사. 조직학적 검사	25
3. 통계처리	25
IV. 실험결과	27
1. 혈액성분의 변화	27
가. 방사선 조사 후 기간별 혈액 성분	27
1) 방사선 조사 후 1일 차 혈액성분	27
2) 방사선 조사 후 3.5일 차 혈액성분	29
3) 방사선 조사 후 7일 차 혈액성분	30
4) 방사선 조사 후 21일 차 혈액성분	31
나. 방사선 조사 후 림프구 수치의 기간별 변화	32
다. 방사선 조사 후 호중구 수치의 기간별 변화	33
라. 방사선 조사 후 혈소판 수치의 기간별 변화	34
마. 방사선 조사 후 적혈구 수치의 기간별 변화	35
2. SOD(superoxide dismutase) 활성도 측정	36
가. 방사선 조사 후 1일 차 SOD 활성도	36
나. 방사선 조사 후 3.5일 차 SOD 활성도	38
다. 방사선 조사 후 7일 차 SOD 활성도	40
라. 방사선 조사 후 21일 차 SOD 활성도	42
3. 체중의 측정	44
4. 뇌 및 비장의 무게 측정	45
5. 조직학적 검사 결과	48
가. 대뇌피질 두께	48
나. 소장융모(intestinal crypt) 관찰	51
다. 소장융모 길이(villi length)의 관찰	53
라. 비장의 관찰	55
마. 간실질 세포의 관찰	57

V. 고찰	58
VI. 결론	62
VII. 참고문헌	64



List of Tables

Table 1. Alternative sweetener market	10
Table 2. Experimental design of rat	20
Table 3. Hematological profile after 1 day of irradiation	28
Table 4. Hematological profile after 3.5 days of irradiation	29
Table 5. Hematological profile after 7 days of irradiation	30
Table 6. Hematological profile after 21 days of irradiation	31
Table 7. SOD activity level after 1 day of irradiation	36
Table 8. SOD activity level after 3.5 days of irradiation	38
Table 9. SOD activity level after 7 days of irradiation	40
Table 10. SOD activity level after 21 days of irradiation	42
Table 11. Cortical thickness after irradiation	48
Table 12. Villi length after irradiation	53

List of Figures

Figure 1. Chemical structure of Rebaudioside A and Stevioside contained in stevia	9
Figure 2. Chemical structure of polyphenol	13
Figure 3. Stevia metabolic pathway	15
Figure 4. Lymphocyte variation by date after irradiation	32
Figure 5. Neutrophil variation by dateafter irradiation	33
Figure 6. Platelet variation by date after irradiation	34
Figure 7. RBC variation by date after irradiation	35
Figure 8. Graph of SOD active level after 1 day of irradiation	37
Figure 9. Graph of SOD active level after 3.5 days of irradiation	39
Figure 10. Graph of SOD active level after 7 days of irradiation	41
Figure 11. Graph of SOD active level after 21 days of irradiation	43
Figure 12. Comparison of body weight after irradiation	44
Figure 13. Comparison of brain weight after irradiation	46
Figure 14. Comparison of spleen weight after irradiation	47
Figure 15. Photomicrographs of the cortical thickness	49
Figure 16. Photomicrographs of the brain parenchyma cells	50
Figure 17. Photomicrographs of the crypt survival in the jejunal circumference	52
Figure 18. Photomicrographs of villi length	54
Figure 19. Photomicrographs of the megakaryocyte and white pulp in the spleen	56
Figure 20. Photomicrographs of the liver parenchyma cells	57

Radioprotective effect of Stevia in Rat

Eun-Joo Son

Department of Food and Life Science,
Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

This paper studied the radiation protection effect of stevia, which is a known natural sweetener for health-conscious consumers. Seventy-eight male rats(aged 6 weeks) were divided into four experimental groups(control group, stevia oral administration group, radiation group, and irradiated group after oral administration of stevia), and stevia leaf powder was orally administered at a dose of 250 mg/kg for 14 days. Then, irradiation(10 Gy) was performed once using a linear accelerator. The results were obtained 1, 3.5, 7, and 21 days after the rats were euthanized.

In experiments on the rats' blood components, the lymphocyte and neutrophil counts were higher than those of the irradiated group ($p<0.01$ and $p<0.05$, respectively). We also found significant results regarding protection against radiation in the platelets ($p<0.05$) and erythrocytes ($p<0.05$) on the 7th and 14th days of the experiment. The administration of stevia leaf powder effectively reduced the damage of the hematopoietic/immune system caused by radiation.

Although statistical significance could not be observed in SOD activity after irradiation, the irradiated group had higher SOD activity after administration compared with the irradiated group. On the 21st day of the experiment, the recovery(29%) of the irradiated group after administration(81%) considerably differed from that of the radiation irradiation group(51%).

No significant differences in body weight and brain weight were observed. By contrast, there was a significant difference in the weight of the spleen. These results, such as those of the blood component test, indicated that the damage of the hematopoietic/immune system was alleviated.

In experiments involving the cerebral cortex, parenchymal cells, and liver parenchymal cells, cell death was not observed due to lack of radiation dose, and the protective effect of stevia leaf powder could not be confirmed. However, such protective effect against radiation was verified in a small intestine observation experiment, which tested jejunum. The protective effect of stevia leaf powder was also validated by observing the length of the small villi from the small intestines. Finally, histological observation of the spleen showed the protective effect of stevia leaf powder.

In conclusion, stevia leaf powder protects the hematopoietic/immune system (lymphocyte, neutrophil, platelet, red blood cells) of rats from radiation, increases the activity of SOD as an antioxidant enzyme, and decreases the cell damage of the spleen and the small intestines. Therefore, stevia leaf powder can be utilized as a natural radiation protection agent for the human body.

I. 서론

원자력발전소는 원자핵이 가진 에너지를 전기에너지로 바꾸는 곳으로서 에너지 발생에 큰 역할을 하고 있다. 하지만 그 결과의 부산물로 방사선과 방사성폐기물이 생성되는데, 이 생성된 방사성폐기물과 방사선은 원자력발전소 사고 시에 방사선피폭의 문제가 되는 것들이다.

원자력발전소에서 사고가 발생하면 그 피해가 국소 피해 뿐만 아니라 광역피해를 유발하기 때문에 피해의 위험 수준이 매우 심각하다. 방사선에 인체가 피폭되면 인체의 최소단위인 원자 또는 분자가 방사선에 의해 직접 전리되어 피해를 보거나, 인체의 70%를 이루는 물이 이온화 된 후 화학반응으로 만들어지는 자유라디칼(free radical)에 의해 간접적으로 피해를 본다. 그 결과 피폭된 개체는 수포, 홍반 등의 작은 질병부터 암 등의 큰 질병이 생기거나 사망에 이를 수 있으며 생식세포의 장애로 인해 후세에 태어날 아기가 선천성기형 등의 질병을 가질 수 있다(Haimovitz-Friedman A 등 1994). 방사선에 의한 인체의 안전에는 방사선에 피폭된 후 발병된 병을 고치는 ‘사후처리’ 보다 방사선 피폭 당시에 발병을 막아 줄 수 있는 ‘사전예방’이 더욱 더 중요한데 이는 방사선에 의한 물리적인 기작을 막을 수 없을 뿐 아니라 병증의 정도가 매우 심각하기 때문이다.

그동안 방사선에 대한 인체의 안전예방의식이 높아지면서 상시 복용 가능한 방사선방호제에 관한 연구가 활발히 시행되고 있다(Kim DY & Chang JC 1998, Kim SH 등 1998, Kim SH 등 2001, Kim KY 등 2005, Jung IY 2005, Choi JH 등 2013a). 그러나 아직까지 그 성과는 미흡하므로 연구는 지속적으로 진행되고 있는 실정이다.

자연방사선은 태양 및 우주에서 날아 들어오는 우주방사선과 지각에서 흘러나오는 방사성 원소에 의한 지각방사선의 두 종류가 있다(Jeong CS 등 2013). 인간은 자연방사선으로 인하여 항상 방사선에 노출되어 있는데, 이 방사선에 의해 인체에 해로운 자유라디칼이 다량 생성된다. 또한 인체에서는 신진대사 또는 면역작

용 등으로 인해 활성산소가 생성되는데 이 역시 인체에는 좋지 않은 영향을 준다.

여러 가지 기전에 의해 생성되는 활성산소 또는 자유라디칼은 인체에서 항산화 효소가 충분히 작용하면 건강하고 활동적인 삶을 영위하지만 활성산소의 생성과 항산화 작용의 균형이 무너져 항산화 작용이 부족하게 되면 인체는 노화가 촉진되거나 질병 또는 암에 걸릴 확률이 높아지고 심할 경우에는 사망하게 된다(Kim EJ 등 2012, Choi JH 등 2004, Nho JH 등 2018).

의료검진 및 치료로 인한 의료방사선 피폭이나 사고에 의한 비상피폭은 급격한 자유라디칼을 발생시키는데 이는 인체가 가지고 있는 항산화 시스템으로는 방어 능력이 부족하기 때문에 항산화제의 외부 섭취가 필요하다고 보고되었다(Kim AR 등 2015). 이에 사고로 인한 급격한 자유라디칼에 대비한 방사선 방호제에 관한 연구가 진행되어 Thiol 복합체인 아미포스틴(amifostine)과 사이토카인(cytokines)의 강력한 항산화 작용에 의한 방사선방호효과가 밝혀졌다. 그러나 이 물질들은 독성이 높아서 생체에 심각한 문제를 유발할 수 있음이 밝혀짐으로써(Park HR 등 2005) 독성이 적으면서 쉽게 구할 수 있고 평소에도 섭취가 가능한 천연물질 방사선 방호제에 관한 연구의 필요성이 대두되었다.

그동안 이루어진 천연물질 방호제에 대한 연구로는 인삼(Kim SH & Han 1996), 사물탕 및 사군자탕(Kim SH 등 1998), 홍삼(Kim DY & Chang JC 1998, Kim SH 등 2001), 당귀(Kim KY 등 2005), 프로폴리스(Jung IY 2005, Ji TJ & Lee SH 2010), 민들레(Choi JH 등 2013), 블루베리(Jang SH & Lee JH 2013), 톳(Kim AR 등 2015), 흑마늘(Jung DY 등 2016), 백하수오(Kim JO 등 2016) 등이 있었다. 그러나 이들 천연물질 방호제는 방사선에 대한 보호효과는 입증되었지만 과량섭취로 인한 독성에 대한 연구가 미흡할 뿐 아니라 아주 적절한 섭취방법을 찾지 못해 아직 실용 또는 상용화에 이르지 못한 상황이다.

천연물질 중 스테비아는 한국, 중국, 일본 등지에서 주로 과자류, 음료, 채소절임 등 다양한 음식에 감미료로 이용되고 있는데(Choi HS 등 2017) 스테비아의 잎에서 5~10%에 해당하는 스테비오사이드는 그 감미도가 설탕의 약 200!~300배 정도로 높다고 보고되었다(Park JE 등 2010, Ghanta S 등 2007). 스테비아는 인공감

미료 대체품으로 사용되기 시작하면서 식품이용 및 그 기능성에 대한 다양한 연구가 이루어졌다. 식품 이용에 관해서는 설기떡(Noh MH 2005), 절임배추김치(Kim JH 등 2004), 파운드케이크(Yoon KH 2002), 머핀(Hong HY 2009), 쌍화음료(Back SE 2008), 쌀겨단무지(Kim YS 등 2007) 등에 스테비아를 첨가시킨 연구가 수행되었다. 또한, 스테비아의 기능성 효과에 관한 연구로는 항당뇨(Dyrskog SE 등 2005), 항비만 및 혈당조절효과(Park JE 2007, Park JE 등 2010), 항고혈압(Chan P 등 1998), 항돌연변이(Yasukawa K 등 2002), 항균 및 항암(Tomita T 등 1997, Toyoda K 등 1997), 항염증(Byun MW 2012), 특히 항산화능(Tadhani MB 등 2007, Sriyani G 등 2007, Kim JH 등 2010, Yoon JW 등 2016, Park SH & Sim KH 2017)에서 탁월한 효과가 인정되었고 발암성과 유전독성이 포유류에서 나타나지 않았다고 보고되었다(Koyama E 등 2003).

식품산업의 빠른 발전과 서구화된 식생활, 고령화에 따른 질병이나 비만의 발생 빈도 증가에 따라 최근 식품에 대한 관심이 높아지고 있다. 이에 따른 기능성 식품이나 생리활성물질을 첨가한 식품에 대한 소비가 증가하는 추세에서(Jeong DH 2012) 항비만, 항당뇨의 효과(Dyrskog SE 등 2005, Park JE 등 2010) 그리고 탁월한 항산화 효과(Yoon JW 등 2016, Park SH & Sim KH 2017)에 대한 스테비아의 선행 연구들의 결과를 살펴 볼 때, 감미료로 평소에 쉽게 복용할 수 있는 스테비아를 방사선 관련 비상사고 및 방사선 피폭에 대비한 천연 방호제로서의 효능을 살펴보는 것은 그 의미가 매우 크다고 볼 수 있겠다.

따라서 본 연구에서는 천연물질로 스테비아 잎 분말을 투여한 쥐에 방사선을 조사하고 21일 기간의 실험을 통해 스테비아 잎 분말의 방사선에 의한 혈구감소 예방, 면역 저하 예방, 항산화 효소의 활성도 감소 예방, 소화기계의 영양분 흡수 감소 예방, 지능 저하 예방 등에 대한 연구를 통해 스테비아 잎 분말의 방사선에 대한 방호효과를 밝히고자 한다. 이는 앞으로 인류에게 방사선 사고에 대한 부담을 줄이는데 도움을 줄 수 있을 것이며 또한 계속되는 천연방사선 보호물질 연구와 식품산업 기술 발전에도 기여 할 수 있을 것이다.

II. 이론적 배경

1. 방사선의 생물학적 작용

물질에 에너지를 전달하여 물질을 직접 또는 간접적으로 전리시킬 수 있는 에너지를 가진 입자파 또는 전자파를 방사선이라 한다. 방사선이 어떤 물질에 작용을 하게 되면 물질은 전자를 잃게 되고 그 결과로 구성성분에 변화가 생긴다. 구성성분에 변화가 생긴 세포는 정상세포가 아니게 되어 사멸하거나 돌연변이 세포로 변질된다. 변질된 세포가 다발로 발생하면 조직에 질병이 발생하게 된다.

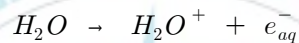
방사선에 의한 세포손상은 다음과 같은 기전으로 발생한다. 방사선에 의해 직접 피해가 생기는 직접작용과 방사선에 의해 체내에 생성된 자유라디칼에 의해 피해가 생기는 간접작용이다(So IC 등 2006). 그 중 직접 작용에 의한 피해보다는 간접작용에 의한 피해가 거의 다수이다(Yang YK 등 2008).

인체는 70%가량이 물이다. 방사선에 의해 물이 이온화되고 이온화된 물분자와 떨어져 나간 전자가 다른 물분자와 화학작용을 한다. 그 결과로 불안정한 자유라디칼이 생성된다(Bowen EK 1978, Robert S 1983). 자연에 존재하는 모든 물질은 자신의 상태가 안정하기를 원한다. 자유라디칼 역시 안정해지려는 습성으로 주변의 성분에 작용하여 산화시킨다. 산화물 주변에 디옥시리보핵산(DNA)이나 염색체가 있으면 자유라디칼에 의해 산화된다. 그 결과 산화적 손상을 입은 염색체는 DNA절단이 일어나고 그 결과로 세포가 죽거나 변이 과정을 거치며(Thompson JA 등 1995) 그로 인해 질병을 얻게 되고 심하면 사망에 이른다.

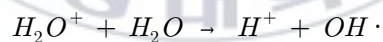
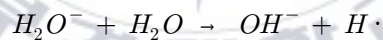
2. 물의 방사선화학

인체의 70%를 이루는 물이 방사선과 작용하여 생성되는 자유라디칼에 의해서 인체가 피해를 받는다. 따라서 방사선에 의한 생명기작을 이해하려면 물의 방사선화학 이해가 필요하다.

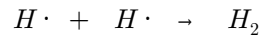
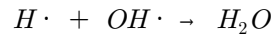
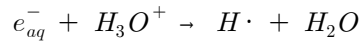
방사선에 피폭되면 물의 이온화가 일어난다. 물분자가 이온화되면 양이온 물분자(H_2O^+)와 하나의 수화전자가 방출되며, 방출된 전자는 다른 물분자와 반응하여 음이온 물분자(H_2O^-)를 생성한다.



양이온 물분자(H_2O^+)나 음이온 물분자(H_2O^-)는 매우 불안정하다. 이들은 10^{-13} 초 이내에 다른 물분자와 반응하여 이온과 자유라디칼로 분해된다.



물 분자의 방사분해로 생성된 것들 중 H^+ 이온과 OH^- 이온은 반응력이 크지 않으나 1차 자유라디칼인 $H\cdot$, $OH\cdot$, e_{aq}^- 는 반응력이 강하다. 생성된 부위에서 자유라디칼이 다시 반응하여 H_2 , H_2O , H_2O_2 를 생성한다. 계속되는 반응으로 생성되는 2차 자유라디칼인 HO_2^- , O_2^- 는 1차 자유라디칼에 비해 반응력이 약하여 생체 내에서 비교적 먼 곳까지 이동하여 작용을 일으킬 수 있다.



또한 생성된 자유라디칼 중 가장 문제가 될 수 있는 O_2^- 는 생체 내에 존재하는 초과산화물제거효소(superoxide dismutase, SOD)에 의해서 H_2O_2 로 분해가 되고, H_2O_2 는 카탈라아제(catalase) 및 과산화효소(oxidase)등의 효소에 의해서 물로 분해되어 안정화 된다.

이와 같은 원리로 과산화물이 생성됨으로써 물 뿐만 아니라 단백질, 핵산, 탄수화물, 지질 등 다양한 성분과 반응하여 대사장해를 일으키게 된다. 방사선방호제의 역할은 전자를 잃어 불안한 분자에 전자를 공여하는 것으로부터 시작한다 (Jayaprakasha GK 등 2001, Lee HJ 등 2008).

3. 자유라디칼 및 항산화작용

보통 활성산소로 알려진 자유라디칼은(free radical) 전자를 쌍으로 가지지 못한 원자나 분자를 말한다(Shoshan MS 등 2016). 스핀(spin)이 반대인 전자를 쌍으로 가지고 있어야 분자가 안정해지는데, 방사선이나 다른 화학작용에 의해 전자를 잃어 짝을 짓지 못해 불안정한 것을 말한다. 그래서 매우 큰 반응성을 가지며, 그 수명도 매우 짧다. 이러한 자유라디칼(free radical)은 인체의 신진대사, 특히 갑상선 대사(Choi JH 등 2013)와 ATP대사(Kim WS 2005)에서도 많이 발생한다. 그리고 방사선(Lee C 등 2003)에 의해서도 발생한다. 방사선에 피폭되면 많은 자유라디칼이 일시에 발생한다. 이러한 자유라디칼은 세포의 성분이나 생체막에 급격한 과산화적 손상을 입힌다.

체내에는 산화작용 방지에 필요한 항산화효소가 존재한다. GPx(glutathione peroxidase), SOD(superoxide dismutase), Catalase, TR(thioredoxin reductase), GST(glutathione S-transferase) 등이 그것이다. 그리고 비효소적으로 섭취에 의존하는 항산화제인 Vitamin C와 E, Selenium, GSH(glutathione), Ceruloplasmin, β -carotene 등이 있다(Lee SY 등 2011). 그런데 그 제거능력 이상의 자유라디칼(free radical)이 생성되어 세포의 적당한 항산화 작용이 되지 않으면 중화되지 못한 자유라디칼은 우리의 몸을 공격하게 되고 우리 몸은 결국 질병이 걸리거나(Packer & Colman 1999, Do KH 2011, Kim CG & Park BS 2012) 심하면 사망에 이를 수 있다(Roh HK 2011, Park 조 등 2002). 항산화제는 자유라디칼을 제거하여 세포의 파괴를 억제하며 동시에 항산화효소 재생에도 도움을 줌으로서 체내의 항산화 능력을 유지시키거나 배가시킨다(Lee SJ 등 1993).

4. 스테비아

가. 스테비아의 대체감미료 효능

스테비아 잎 분말은 최근 그 스테비아 사용량이 급격하게 증가하고 있고 또한 강력한 항산화 능력 때문에 많은 관심을 받고 있다.

파라과이와 브라질 국경지대 인접지역의 고산지대에 서식하는 국화과 다년생 초본식물인 스테비아(학명: *stevia rebaudiana*)는 줄기와 잎에 stevioside를 함유하고 있다. 이 stevioside는 감미도가 설탕의 200~300배 이면서도(Hanson JR & De Oliverira BH 1993) 무독성 저칼로리(Choi SN 등 2014), 무색, 무취의 새로운 천연감미료이다. 또한 120℃에서 1시간 가열하여도 단맛과 pH가 그대로 유지되어(Toskulkao C 등 1997, Kroyer GT 1999) 가공식품에도 다양하게 사용 가능하다(Kim HI & Lee BM 1996).

이에 스테비아는 인공감미료를 대체하는 대체품으로 사용되기 시작하였으며 식품이용 및 그 기능성에 대한 다양한 연구가 이루어 졌다. 식품이용에 관해서는 설기떡(Noh MH 2005), 절임배추김치(Kim JH 등 2004), 파운드케이크(Yoon KH 2002), 머핀(Hong HY 2009), 쌍화음료(Back SE 2008), 쌀겨단무지(Kim YS 등 2007) 등에 관한 연구가 이루어 졌으며 기능성에 관한 연구로는 항당뇨(Dyrskog SE 등 2005), 항비만 및 혈당조절효과(Park JE 2007, Park JE 등 2010), 항고혈압(Chan P 등 1998), 항돌연변이(Yasukawa K 등 2002), 항균 및 항암(Tomita T 등 1997, Toyoda K 등 1997), 항산화능(Tadhani MB 등 2007, Srijani G 등 2007, Yoon JW 등 2016, Kim JH 등 2010) 등이 이루어 졌다.

설탕의 200배 당도가 있음에도 오히려 인슐린 분비 등 당뇨병 예방에 탁월한 효과들이 입증되어 있는 스테비아는(Kim HI & Lee BM 1996) 2008년 12월 스테비아 유래의 Rebaudioside A가 FDA에 의해 천연 감미료로 승인되면서 세계적으로 많은 각광을 받고 있다(Kim JH 2010).

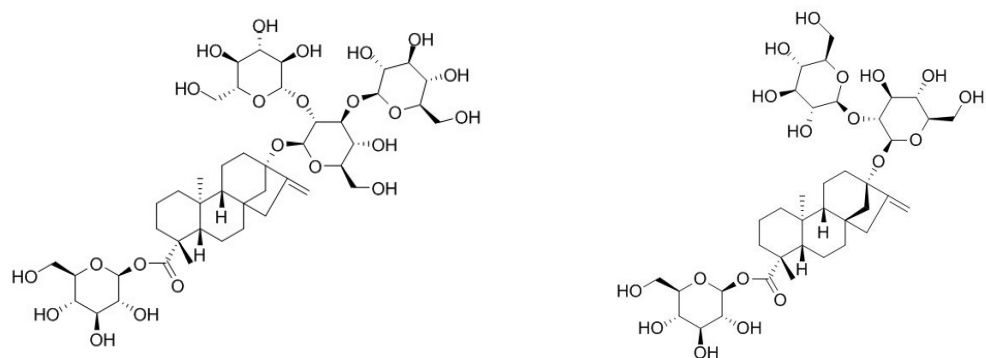


Figure 1. Chemical structure of Rebaudioside A and Stevioside contained in stevia

또한 미국을 중심으로 비만과 당뇨를 우려한 정책에 따라 고과당시럽(high fructose corn syrup) 시장은 연평균 20만 톤 수준으로 지속적인 감소를 보이고 있다(Kim YH 등 2016). 국내 식품의약품안전청에서도 2016년 ‘제 1차 당류 저감 종합계획’을 수립하였고, 가공식품의 당류 표시의 의무화 및 당류의 저감화를 위한 기술 개발과 보급을 적극 추진하기로 하였다. 따라서 2030년에는 고과당 시장이 전체의 30%까지 감소되며 이것의 대체 소재 시장은 1조원 규모에 이를 것으로 예측되고 있어 스테비아의 사용량은 더욱 증가 할 것으로 전망되고 있다.

Table 1. Alternative sweetener market

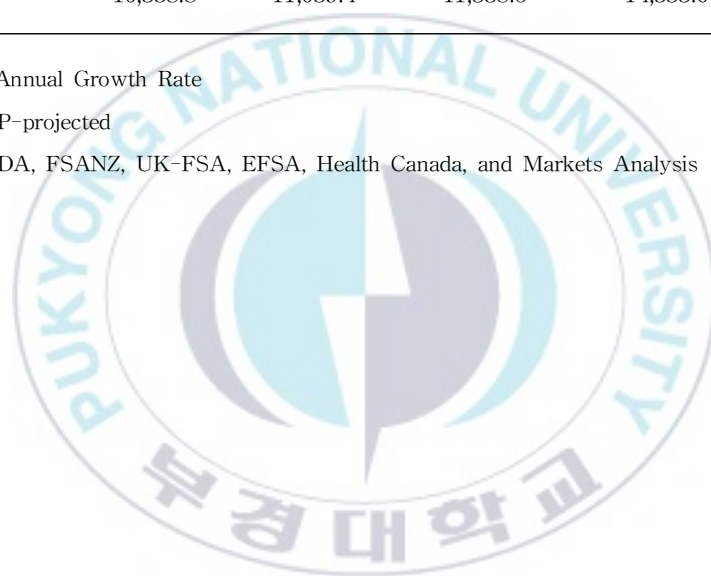
(\$ million)

Variables	2012 year	2013 year	2014 year-E	2019 year-P	CAGR ¹⁾ % (2014-2019)
High fructose	3,111.0	3,173.2	3,236.7	3,573.6	2.0
High intensity sweetener	5,250.0	5,512.5	5,788.1	7,387.3	5.0
Low intensity sweetener	2,177.8	2,353.7	2,513.8	3,394.1	6.2
Total	10,538.8	11,039.4	11,538.6	14,355.0	4.5

¹⁾ Compound Annual Growth Rate

E: estimated, P-projected

Source: US-FDA, FSANZ, UK-FSA, EFSA, Health Canada, and Markets Analysis



나. 스테비아의 항산화 활성

항산화능이란 산화적 스트레스(oxidant stress)로 인해 발생되며 노화나 각종 질병의 원인으로 알려진 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 제거하는 능력을 말한다(Fridovich I 1978, Halliwell B 등 1992). 항산화 물질은 체내에서 활성산소종이 과도하게 생성되거나 항산화력의 균형이 깨져 세포나 조직의 손상을 받게 되는 것(Halliwell B 등 1992, Kovacic P 등 2001, Valko M 등 2001)을 방지한다.

체내에는 카탈라제(catalase), SOD(superoxide dismutase), GPx(glutathione peroxidase) 등의 항산화효소가 있어 조직의 과산화를 억제한다(Awasthi YC 등 1975, Lee 등 SY 2011, Gurpreet K 등 2006). 하지만 인체 대사에서 기본적으로 발생하는 활성산소와 더불어 화학약품, 공해물질 등의 환경변화와 식습관의 서구화, 그 중에서 급격하게 방사선 피폭으로 인해 일시에 활성산소가 과량으로 발생하게 될 경우 체내 산화-항산화 균형이 무너지면서 질병 발현이 보고되고 있어(Bodaness RS 와 Chan P 1977, Fridovich I 1978, Trush MA 등 1982, Aust SD 등 1985, Halliwell B 등 1992, Reiter RJ 1995, Yang JH 등 2006) 체내 항산화력 유지는 매우 중요하다.

식물계의 항산화 물질은 대부분 Phenol류의 화합물이 많은데(Park SI & Jung DW 2005), Yamamoto N 등(2001)과 Lee JU(2008)는 수많은 허브 중에서는 스테비아에 폴리페놀류가 가장 많이 함유되어 있다고 보고하였고 Kim JH 등(2010)은 스테비아 추출물의 항산화 활성은 70% 이상으로 매우 높은 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였다.

페놀성 화합물은 라디칼 소거 및 환원 방법으로 항산화 작용을 하는 것으로 알려져 있는데(Kang YH 등 1995), 스테비아에는 1,310 mg/100g의 다량의 폴리페놀이 함유되어 있으며 녹차에 비하여 항산화 활성이 20배 이상 높은 것으로 밝혀졌다(Lee JU 2008). 그리고 강력한 항산화제인 Trolox와 항산화 비교실험에서도 스테비아에서 더 높은 항산화 활성이 나타났다고 보고된 바 있다(Tadhani MB 등 2007)

다. 스테비아의 항산화 기전

스테비아의 항산화 작용기전에는 두 가지 기전이 있다. 첫째, 스테비아에 포함된 다량의 폴리페놀의 직접적인 항산화 작용과 둘째, 체내의 항산화시스템 활성도를 증가시켜 주는 기전이다.

폴리페놀 화합물은 flavonoids, anthocyanins, isoflavones, tannins, catechins, resveratrols, lignans 등을 총칭하며 지금까지 알려진 폴리페놀 종류만으로도 6,500 종이 넘는다(Korkina LG & Afanas'ev IB 1997, Rauha JP 등 2001). 이들은 식물계에 널리 분포하며 열매류 및 과일에 다량 함유되어 있는데(Urquiaga I & Leighton F 2000, Dai J & Mumper RJ 2010) 스테비아에도 다량의 폴리페놀이 함유되어 있다.

폴리페놀 화합물의 직접적인 항산화 기전은 다음과 같다.

페놀은 6개의 탄소 원자가 동일평면으로 결합되어 있는 평면정육각형 고리구조인 벤젠(benzene) 고리에 하이드록시기(hydroxyl)가 결합되어 있는 구조를 말한다. 그리고 폴리페놀은 페놀이 두 개 이상 결합되어 있는 구조를 말한다. 하이드록시기는 수소를 다른 분자에 전달함으로써 전자 1개의 여유가 생기게 되고 이것을 전자가 필요한 활성산소에 공여함으로써 항산화 작용을 한다. 이로써 초기 단계에 생성된 유리기가 안정된 화합물이 되도록 하여 산화작용을 억제한다(Lee SH 등 1996).

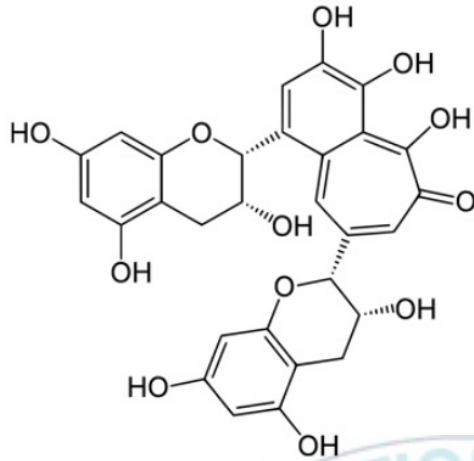


Figure 2. Chemical structure of polyphenol

스테비아의 체내 항산화시스템에 대한 대사과정은 다음과 같다.

먼저 다음의 3가지 방법으로 특히 많은 활성산소종이 생겨난다.

첫째, 인체의 에너지대사(ATP, adenosine triphosphate)에서 세포 내에 분포한 미토콘드리아(mitochondria)는 산소를 이용하여 체내로 흡수된 포도당(glucose)을 이용하고 열에너지와 ATP로 변환시키며, 물(H_2O)과 이산화탄소(CO_2)가 마지막에 부산물로 발생한다. 하지만 일련된 작용에서 식습관과 환경의 변화 또는 생체 자체의 완벽하지 못한 반응 등이 원인이 되어 물(H_2O)이 아닌 과산화수소(H_2O_2)가 부산물로 남는 경우가 생긴다. 그리고 과산화수소(H_2O_2)는 다시 이온 상태로 존재하고 있는 산소와 작용하여 초과산화이온($\cdot O_2^-$)이 된다(Pelicano H 등 2004, Birch-Machin MA 등 2013).

둘째, 갑상선호르몬 대사에서는 T3, T4 호르몬을 생성하기 위해 과산화수소(H_2O_2)가 필요하고 이것을 생체 내에서 만들어서 사용한다. 사용되고 남은 과산화

수소는 다시 이온 상태로 존재하고 있는 산소와 작용하여 초과산화이온($\cdot O_2^-$)이 된다(Turker O 등 2006).

셋째, 방사선은 물을 전리시키고 전리된 물은 다른 물분자와 반응하여 초과산화이온($\cdot O_2^-$)을 발생시키는데 방사선은 과산화수소(H_2O_2), 수산화라디칼($\cdot OH$) 등의 강력한 산화성 물질을 한꺼번에 대량으로 발생시킨다(Kee HS 등 1997).

이렇게 발생한 초과산화이온($\cdot O_2^-$)은 다음과 같은 순으로 분해가 이루어진다. 먼저 산소를 이용하는 거의 모든 세포에 항산화 방어기작을 하는 강력한 항산화력을 가진 체내 효소인 SOD(superoxide dismutase)에 의해 과산화수소(H_2O_2)로 1차 분해된다($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). 그리고 과산화수소는 티오레독신환원효소(TR, thioredoxin reductase)와 글루타티온과산화효소(GPx, glutathione peroxidase)에 의해 물($2H_2O$)로 분해되거나($H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$) 카탈라제(catalase)에 의해 물($2H_2O$)과 산소(O_2)로 분해되면서($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$) 안정화된 성분이 된다(Salin ML 1991, Anderson MD 등 1995, Hong SC 등 2009).

그런데 SOD는 분자량이 큰 단백질로 체내에 쉽게 흡수되지 못하고 배출되어 버린다(Donnelly JK 등 1989, Kim SJ 등 1995). 또한 열과 pH에 불안정하다(Korycka-Dah M 등 1979). 그래서 체내의 항산화 기작을 위해서 SOD와 유사한 활성을 하는 물질을 찾는 연구가 활발히 진행 중인데(McKersie BD 등 1993, Bowler 등 1994, Lim 등 2004) 스테비아는 SOD의 생성에 관여하여 SOD 생성을 17~47% 증가시키고 항산화 기작을 활성화 시킨다는 연구 보고(Choi YS 등 2011)를 통해 큰 관심을 받고 있다.

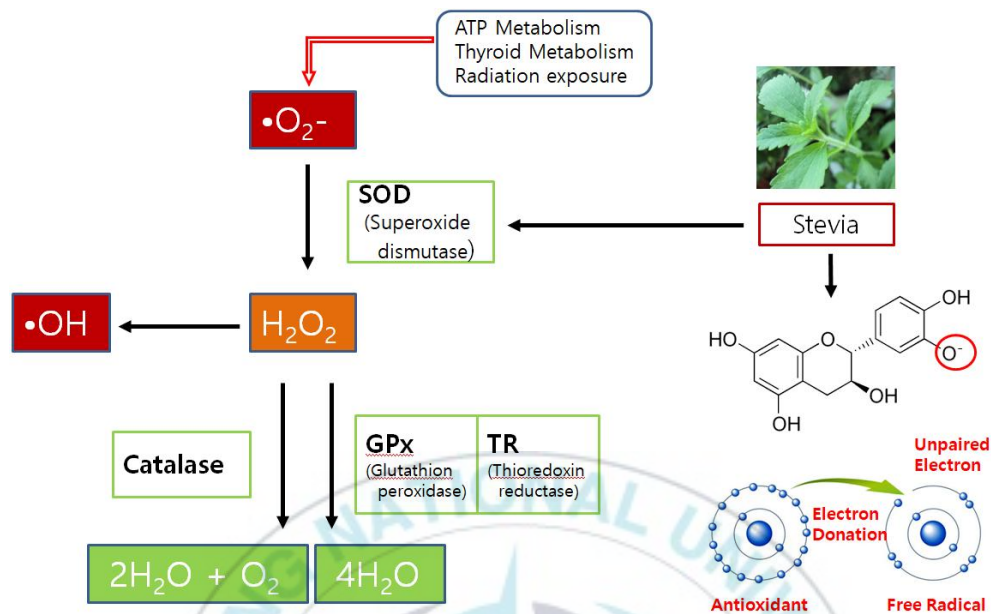


Figure 3. Stevia metabolic pathway

5. 연구목적

인간은 살아가면서 질병이나 사고 없이 건강한 삶을 영위하기 위해 노력한다. 하지만 세포의 손상(Chung HY 등 2006, Lee C 등 2003) 및 질병의 원인(Christen Y 2000, Nunomura A 등 2006, Van-Gaal L 등 2006)이 되는 활성산소는 인간의 생활에서 없어질 수 없는 존재이다. 생명체의 대사작용에는 많은 활성산소가 발생하게 되고, 인체의 면역방어기작이나 생리 활성을 위해서는 체내에서 직접 활성산소를 만들어 사용하기도 한다. 또한 자연에서 계속 발생되어 우리 몸에 조사되고 있는 자연방사선(Jung HM & Jung JE 2017)은 인체의 약 70%를 이루는 물에 작용하여 활성산소를 만들어 낸다. 그리고 의료 및 방사선 작업에 의해 발생하는 피폭은 상당량의 자유유리기(Lee JA 2017)가 발생하며 사고에 의한 과피폭에서는 급격한 자유유리기가 발생한다. 활성산소 및 자유유리의 생성이 많아지면 체내의 항산화시스템과의 균형이 무너지면서 질병이 발생하게 된다. 따라서 항산화력을 가진 방사선방호제의 필요성이 부각되고 방사선방호제 연구가 활성화 되면서 화학적 방사선방호제를 거쳐 근래에는 천연물의 방사선방호제 연구가 활발히 이루어지고 있다.

방사선 사고는 다음과 같은 두 가지의 특징을 가진다. 첫째, 비교적 소량의 방사선에도 큰 장해를 일으키고(Lee HJ & Lee SB 2007) 둘째, 사고 이후 발생하는 질병의 대처는 예방의 방법이 없는 다른 일반적인 질병과 마찬가지로 소극적일 수밖에 없다는 것이다. 따라서 갑자기 발생하는 사고에 의한 질병 발생을 예방하기 위해 평소에도 복용이 가능하고 쉽게 접근이 가능한 천연물의 방사선방호제 연구는 아주 중요한 주제라 할 수 있다.

이에 본 연구에서는 항산화 능력이 뛰어난 스테비아의 방사선에 대한 방호효과를 입증하고자 한다. 흰쥐에 스테비아 잎 분말을 14일간 투여한 후 방사선을 조사하고 각각의 변화가 나타나는 일정에 맞추어 혈액성분의 변화, SOD 활성도, 체중 변화, 대뇌피질, 소장염, 간질질 세포 등의 조직학적 관찰에 관한 연구를 수행하고자 한다. 이를 통해 갑자기 발생하는 방사선 사고 등에 의한 방사선 피폭으로부터

인체를 보호해 줄 수 있는 천연물질 방호제로서의 기능을 입증하는 것은 스테비아를 평소에도 복용이 가능하고 쉽게 접근이 가능한 물질의 입증이라는데 그 의의가 크다 볼 수 있다. 또한 이는 대체감미료로 각광을 받고 있는 스테비아를 방호효과에 적용시킴으로써 인류의 방사선 피폭에 대한 두려움을 감소시키고 스테비아의 사회적 이용가치를 증가시켜 식품산업이 새로운 방향으로 도약하고 발전하는데 크게 기여 할 수 있을 것이다.



Ⅲ. 재료 및 방법

1. 실험재료

가. 실험동물 준비 및 사육

실험대상 동물로 생후 4 주령의 Sprague Dawley rat(SD rat) 수컷(체중 75~124 g) 78마리를 하나바이오(Gyeonggi, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 실험동물의 사육은 인제대학교 동물자원센터 Clean Room에서 진행하였다. Clean Room의 온도는 21 ± 2 °C, 습도는 $55\pm5\%$, 명암주기는 12시간/Day Cycle로 유지하였다.

7일간 표준사료와 탈이온수를 자의로 섭취하도록 하여 검역순화 하였다. 그리고 7일이 지난 뒤 실험군을 편성하였다. 본 연구의 실험동물 취급은 동물실험윤리위원회(institutional animal care and use committee, IACUC)의 승인하에 수행되었다(승인번호 : 2019-002).

나. 실험군 편성

생후 5주령이 되어 실험군을 편성하였다. 실험군 편성은 다음과 같다. 표준사료와 탈이온수만 섭취한 대조군, 표준사료와 탈이온수를 섭취하며 스테비아를 함께 섭취한 스테비아 잎분말 투여군(이하 투여군), 대조군과 같은 조건에서 방사선 10 그레이(gray, 이하 Gy로 표기)를 조사한 방사선조사군, 스테비아 잎분말 투여군과 같은 조건에서 방사선 10 Gy를 조사한 스테비아 잎분말 투여 후 방사선조사군(이하 투여 후 조사군) 4가지 실험군이다. 그리고 시료채취는 1일, 3.5일, 7일, 21일에 진행하였다.

시료를 1일, 3.5일, 7일, 21일에 채취한 이유는 다음과 같다. 방사선을 조사 후 12~24시간에는 백혈구 중의 림프구 감소치를 확인하였다. 그리고 SOD 검사를 시행하였으며 소장용모의 뿌리인 소장암(intestinal crypt) 세포핵의 응축을 확인하였다. 방사선을 조사 후 3.5일에는 백혈구 중의 호중구 감소치 확인과 SOD 검사를 시행하였다. 그리고 소장암 세포의 사멸로 인한 소장용모의 길이 변화를 관찰하였으며 비장의 무게, White pulp와 거핵세포(megakaryocyte), 1일차 검사에서 감소한 림프구의 회복을 관찰하였다. 방사선 조사 후 7일에는 1일과 3.5일에 감소한 혈액 수치의 회복과 혈소판 감소를 확인하였으며 SOD 검사를 시행하였다. 그리고 대뇌의 무게와 대뇌의 피질, 뇌부종, 뇌의 혈관변화 등을 관찰하였으며 간의 조직 검사와 생화학 검사를 시행하였다. 방사선 조사 후 21일에는 1일과 3.5일, 7일에 감소한 혈액 수치의 회복과 적혈구 감소를 확인하였다. 또한 SOD 검사를 시행하였다(Potten CS 1995, Park HR 등 2005, Hall EJ 1988, Jung DY 등 2016, Kang AJ 등 2015).

각 실험군에 6마리를 사용하였으며 일반대조군은 기간에 따른 검사의 차이가 없으므로 기간에 관계없이 6마리의 실험결과를 공통으로 사용하였다. 전체 사용수는 78 마리였다.

Table 2. Experimental design of rat

Variables	1 day	3.5 days	7 days	21 days
N		6		
S	6	6	6	6
10 Gy	6	6	6	6
S+10 Gy	6	6	6	6

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection

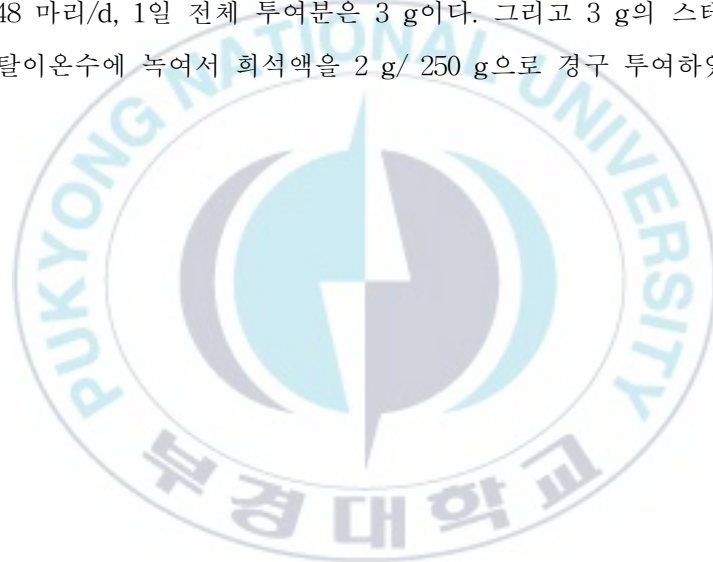
10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

다. 스테비아 준비

시료로 사용된 스테비아는 유해성분의 첨가나 별도의 유전자 조작 없이 가공하지 않은 잎을 분리, 건조하여 준비한 잎분말을 (주)한국스테비아(Jeongeup, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 분말상태의 시료를 구매하여 탈이온수에 녹여서 사용하였으며 선행연구를 참고하여 250 mg/kg으로 경구 투여를 준비하였다(Rajesh S 등 2012).

시료의 1회 사용치가 소량이어서 1일 전체 투여분을 1회에 제조하여 나누어 사용하였다. 1일 전체 투여량은 다음과 같다. 1마리 투여량 62.5 mg/250 g, 스테비아 투여 개체 48 마리/d, 1일 전체 투여분은 3 g이다. 그리고 3 g의 스테비아 잎분말을 96 g의 탈이온수에 녹여서 희석액을 2 g/ 250 g으로 경구 투여하였다.



라. 시약 및 기기

혈액 성분 검사를 위해 EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid)-K3가 봉입된 채혈전용 튜브를 사용하였으며 SOD 활성 측정을 위해 SOD Assay kit - WST(Dojindo Inc, Rockville, MD, USA)를 사용하였다.

실험기기로 혈구분석기(BC-2800Vet, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics, China), Chemiluminescent immunoassay(Roche Diagnostics, cobas e602, USA), 원심분리기(Union 32R, Hanil Science Industrial Co., Korea)를 사용하였으며 실험실에서 사용하는 일반기기를 사용하였다.



2. 실험방법

가. 시료투여

시료의 투여방법은 다음과 같다. 스테비아(62.5 mg/250 g) 분말을 녹여서 만든 2 ml의 용액을 존대를 이용하여 14일간 1일 1회 경구투여 하였다.

나. 방사선조사

방사선조사는 선형가속기(Synergy Platform, ELEKTA, Stockholm Sweden)를 이용하였다. 방사선이 균등하게 조사되도록 직접 제작한 30×30 cm² 아크릴 재질 케이스(case)를 이용하였다. 방사선 Field Size는 35 × 35 cm²로 고정하고 6마리씩 넣은 뒤 아크릴 case를 방사선장에서 이탈하지 않도록 중심을 맞추었다. SSD(source-surface distance)100 cm에서 깊이 1.5 cm 지점이 Max dose인 6 MV X선으로 Dmax 지점에 선행논문을 참고하여 10 Gy를 1회 전신 조사하였다 (Park HR 등 2005, Kim SH 등 1998, Kim 효 등 2006, Choi HS 등 2017).

정확한 방사선량이 조사되도록 하기 위하여 방사선조사 직전에 조사량을 검교정 하였다. 검교정에는 전위계(electrometer, Lot. PTW/T10021-00427, Freiburg, Germany)와 전리함(ion chamber, Lot. PTW/TM30013 farmer type, Freiburg, Germany)를 이용하였다. 마취로 인한 실험결과의 편차를 막기 위해 마취는 하지 않았다.

다. 시료채취

방사선 조사 후 1일, 3.5일, 7일, 21일 간격으로 다음과 같이 시료를 채취하였다. 2% Isoflurane으로 흡입 마취 후 복부를 절개하여 개복하고 각 검사일 모두 복부 대정맥을 통해 전혈을 채취하였으며 조직의 채취는 다음과 같이 시행하였다.

방사선 조사 후 1일과 3.5일에는 소장염과 소장융모의 길이를 측정하기 위해 위

에서부터 아래로 3 cm 부분(공장, jejunum)부터 약 3 cm가량 절개하였다. 그리고 3.5일에는 비장의 무게, White pulp와 거핵세포(megakaryocyte)를 관찰하기 위하여 비장을 적출하였다.

방사선 조사 후 7일에는 지능을 간접적으로 평가하기 위하여 대뇌를 적출하고 간의 형태학적 변화를 관찰하기 위해 간의 일부를 적출하였다.

라. 체중측정

방사선 조사 후 1일, 3.5일, 7일, 21일 간격으로 시료를 채취하기 전 흡입마취 후 동물용 체중계를 이용하여 체중을 측정하였다.

마. 혈구 성분 측정

채취한 혈액을 EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid)-K3가 함유된 EDTA 튜브에 넣고 쿨터 믹서(coulter mixer)를 이용하여 15분 혼합하였다. 그리고 동물전용 혈액분석기(BC-2800VET, Mindray, Shenzhen, China)를 이용하여 림프구(lymphocyte)와 호중구(neutrophil), 혈소판(platelet), 적혈구(red blood cell)의 4가지 혈액성분을 분석하였다.

바. 초과산화물불균등화효소(SOD, superoxide dismutase) 측정

채취한 혈액을 4 °C에서 600 g로 설팀한 원심분리기(Union 32R, Hanil Science Industrial Co. Korea)를 이용하여 10분간 원심분리 하였다. 무게 차이로 인하여 여러 층으로 나누어진 혈액을 성분을 이용하여 sample solution 과 enzyme working solution, dilution solution, WST working solution을 제조하였다. 그리고 sample solution, enzyme working solution, dilution solution은 20 µL, WST working solution은 200 µL 용량으로 각각의 blank well에 넣었다. 그리고 incubator를 이용, incubation하여 흡광도 측정을 준비를 하였다. incubator 온도는 37 °C였으며 incubation 시간은 20분이었다. 그리고 microplate reader를 사용하여

450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

SOD의 활성도 계산은 다음과 같다.

Sample solution에 포함된 초과산화물의 환원반응을 50% 억제하는 효소의 양을 1 unit으로 하였다. 그리고 기기의 매뉴얼에 있는 공식에 각 흡광도 값을 대입하여 SOD activity를 확인하였다.

SOD activity inhibition rate(%) =

$$\{[(\text{blank 1}-\text{blank 3})-(\text{sample}-\text{blank 2})]/(\text{blank 1}-\text{blank 3})\} \times 100$$

* blank 1 : WST working solution + double distilled water

+ enzyme working solution

blank 2 : WST working solution + sample solution

+ dilution solution

blank 3 : WST working solution + double distilled water

+ dilution solution

사. 조직학적 검사

광학현미경 관찰에 사용할 실험동물의 뇌와 소장, 비장, 간 조직은 자가용해 (autolysis)를 방지하기 위해 10% 포르말린(formalin)으로 고정하였다. 그리고 일반적인 파라핀 절편(paraffin method) 방법으로 표본을 제작하였다. 일반적인 파라핀 절편법은 다음과 같다. 첫째, 고정된 조직을 에틸알콜(ethyl alcohol)로 탈수한다. 둘째, 자일렌(xylene)으로 치환하고 파라핀 블록(paraffin block)을 제작한다. 셋째, 박절하여 헤마토실린(hematoxylin)과 에오진(eosin)으로 염색(H-E staining)한다.

아. 통계처리

실험결과 분석은 통계 프로그램 SPSS 22.0(IBM, USA)를 이용하였다. 실험의 결과는 기술통계(descriptive statistics) 분석을 실시하여 평균 및 표준편차

(mean±SD)로 표기하였으며 백분율 기록이 가능한 실험에는 대조군의 평균값을 기준으로 하여 방사선조사군과 투여 후 조사군의 백분율 차이를 투여 후 조사군 결과값에 %로 추가 기록하였다. 실험군 간의 비교분석을 위하여 독립표본 t 검정 (independent-sample t-test)를 실시하였으며 $P<0.05$ 이상의 수준에서 유의성을 표시하였다.



IV. 실험결과

1. 혈액 성분의 변화

가. 방사선 조사 후 기간별 혈액 성분

1) 방사선 조사 후 1일 차 혈액성분

방사선 조사 후 1일차 혈액 성분의 변화를 Table 3에 나타내었다. 투여 후 조사군의 림프구(lymphocyte) 측정값($1.03 \pm 0.19 \times 10^3/\mu\ell$)이 방사선조사군의 측정값($0.53 \pm 0.20 \times 10^3/\mu\ell$)에 비하여 유의하게 높게 측정되었다($p < 0.01$). 그리고 투여 후 조사군의 호중구(neutrophil) 측정값($1.00 \pm 0.17 \times 10^3/\mu\ell$)이 방사선조사군의 측정값($0.77 \pm 0.21 \times 10^3/\mu\ell$)에 비하여 유의하게 높게 측정되었다($p < 0.05$). 방사선조사군의 림프구 백분율이 대조군에 비해 10%인 것에 비해 투여 후 조사군의 림프구 백분율은 대조군에 비해 19%로 방사선조사군 대비 감소가 9% 완화되는 효과가 있었다. 그리고 방사선조사군의 호중구 백분율이 대조군에 비해 47%인 것에 비해 투여 후 조사군의 호중구 백분율은 대조군에 비해 61%로 방사선조사군 대비 감소가 14% 완화되는 효과가 있었다.

Table 3. Hematological profile after 1 day of irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu\ell$)	4.68 $\pm$ 0.61	6.13 $\pm$ 0.89	0.53 $\pm$ 0.20	1.03 $\pm$ 0.19**
Neutrophil ($\times 10^3/\mu\ell$)	1.45 $\pm$ 0.24	1.42 $\pm$ 0.28	0.77 $\pm$ 0.21	1.00 $\pm$ 0.17*
Platelet ($\times 10^3/\mu\ell$)	1079.15 $\pm$ 124.02	1197.08 $\pm$ 137.12	1205.35 $\pm$ 271.05	1359.13 $\pm$ 188.60
RBC ¹⁾ ($\times 10^6/\mu\ell$)	7.18 $\pm$ 0.11	6.78 $\pm$ 1.48	6.96 $\pm$ 0.14	7.44 $\pm$ 0.09

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

S+10 Gy. normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

¹⁾RBC: red blood cell

** p<0.01 as compared with 10 Gy group

* p<0.05 as compared with 10 Gy group

2) 방사선 조사 후 3.5일 차 혈액성분

방사선 조사 후 3.5일차 혈액 성분의 변화를 Table 4에 나타내었다. 투여 후 조사군의 호중구(neutrophil) 측정값($0.63 \pm 0.20 \times 10^3/\mu\ell$)이 방사선조사군의 측정값 $0.37 \pm 0.08 \times 10^3/\mu\ell$ 에 비하여 유의하게 높게 측정되었다($p < 0.05$). 방사선조사군의 호중구 백분율이 대조군에 비해 22%인 것에 비해 투여 후 조사군의 호중구 백분율은 대조군에 비해 38%로 방사선조사군 대비 감소가 16% 완화되는 효과가 있었다.

Table 4. Hematological profile after 3.5 days of irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu\ell$)	4.68 $\pm$ 0.61	5.63 $\pm$ 0.36	0.09 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.02
Neutrophil ($\times 10^3/\mu\ell$)	1.45 $\pm$ 0.24	1.38 $\pm$ 0.31	0.37 $\pm$ 0.08	0.63 $\pm$ 0.20*
Platelet ($\times 10^3/\mu\ell$)	1079.15 $\pm$ 124.02	1082.08 $\pm$ 127.08	1137.56 $\pm$ 192.25	1087 $\pm$ 165.18
RBC ¹⁾ ($\times 10^6/\mu\ell$)	7.18 $\pm$ 0.11	6.97 $\pm$ 0.26	7.00 $\pm$ 0.28	7.19 $\pm$ 0.11

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

¹⁾RBC: red blood cell

* $p < 0.05$ as compared with 10 Gy group

3) 방사선 조사 후 7일 차 혈액성분

방사선 조사 후 7일차 혈액 성분의 변화를 Table 5에 나타내었다. 투여 후 조사군의 혈소판(platelet) 측정값($39.83 \pm 10.11 \times 10^3/\mu\ell$)이 방사선조사군의 측정값($14.02 \pm 2.50 \times 10^3/\mu\ell$)에 비하여 유의하게 높게 측정되었다($p < 0.05$). 방사선조사군의 혈소판 백분율이 대조군에 비해 1.3%인 것에 비해 투여 후 조사군의 혈소판 백분율은 대조군에 비해 4.9%로 방사선조사군 대비 감소가 3.6% 완화되는 효과가 있었다. 또한 계속되는 호중구의 감소에서도 스테비아의 보호효과는 확인되었으며($p < 0.01$) 방사선조사군의 림프구 수치는 최저로 하락하여 유지되고 있고 투여 후 조사군의 림프구는 회복을 시작하는 경향을 보인다($p < 0.01$).

Table 5. Hematological profile after 7 days of irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu\ell$)	4.68 $\pm$ 0.61	6.42 $\pm$ 2.10	0.12 $\pm$ 0.04	0.32 $\pm$ 0.18*
Neutrophil ($\times 10^3/\mu\ell$)	1.45 $\pm$ 0.24	1.32 $\pm$ 0.75	0.12 $\pm$ 0.08	0.20 $\pm$ 0.06*
Platelet ($\times 10^3/\mu\ell$)	1079.15 $\pm$ 124.02	1047.25 $\pm$ 91.06	14.02 $\pm$ 2.50	39.83 $\pm$ 10.11**
RBC ¹⁾ ($\times 10^6/\mu\ell$)	7.18 $\pm$ 0.11	7.11 $\pm$ 0.21	6.30 $\pm$ 0.35	6.78 $\pm$ 0.13

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

¹⁾RBC: red blood cell

** $p < 0.01$ as compared with 10 Gy group

* $p < 0.05$ as compared with 10 Gy group

4) 방사선 조사 후 21일 차 혈액성분

방사선 조사 후 21일차 혈액 성분의 변화를 Table 6에 나타내었다. 투여 후 조사군의 RBC(red blood cell) 측정값($4.54 \pm 0.63 \times 10^6/\mu\ell$)이 방사선조사군의 측정값($3.67 \pm 0.49 \times 10^6/\mu\ell$)에 비하여 유의하게 높게 측정되었다($p < 0.05$). 방사선조사군의 적혈구 백분율이 대조군에 비해 51%인 것으로 나타난 반면 투여 후 조사군의 적혈구 백분율은 대조군에 비해 63%로 방사선조사군 대비 감소가 12% 완화되는 효과가 있었다. 그리고 7일차까지 계속 감소하였던 림프구, 호중구, 혈소판의 수치가 많은 회복을 하였다. 또한 투여 후 조사군에서 빠른 회복세를 보였다($p < 0.05$).

Table 6. Hematological profile after 21 days of irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu\ell$)	4.68 ± 0.61	5.45 ± 0.62	1.55 ± 0.30	$2.07 \pm 0.36^*$
Neutrophil ($\times 10^3/\mu\ell$)	1.45 ± 0.24	1.45 ± 0.16	0.25 ± 0.14	$0.47 \pm 0.14^*$
Platelet ($\times 10^3/\mu\ell$)	1079.15 ± 124.02	1704.05 ± 45.13	343.03 ± 62.10	$530.08 \pm 148^*$
RBC ¹⁾ ($\times 10^6/\mu\ell$)	7.18 ± 0.11	8.02 ± 0.12	3.67 ± 0.49	$4.54 \pm 0.63^*$

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

¹⁾RBC: red blood cell

* $p < 0.05$ as compared with 10 Gy group

나. 방사선 조사 후 림프구 수치의 기간별 변화

방사선 조사 후 림프구 수치의 날짜별 변화를 Fig 4에 나타내었다. 1일차 실험에서 투여 후 조사군(S+10 Gy)의 감소치가 방사선조사군(10 Gy)에 비해 낮은 것을 볼 수 있다($p < 0.01$). 3.5일차에 가장 낮은 수치를 보이며 7일차 실험에서 소폭 회복하는 경향을 보이며 투여 후 조사군(S+10 Gy)의 회복이 빨랐다($p < 0.05$). 그리고 21일차 회복에서도 방사선조사군(10 Gy)에 비해 투여 후 조사군(S+10 Gy)이 더 빠른 것을 볼 수 있다($p < 0.05$).

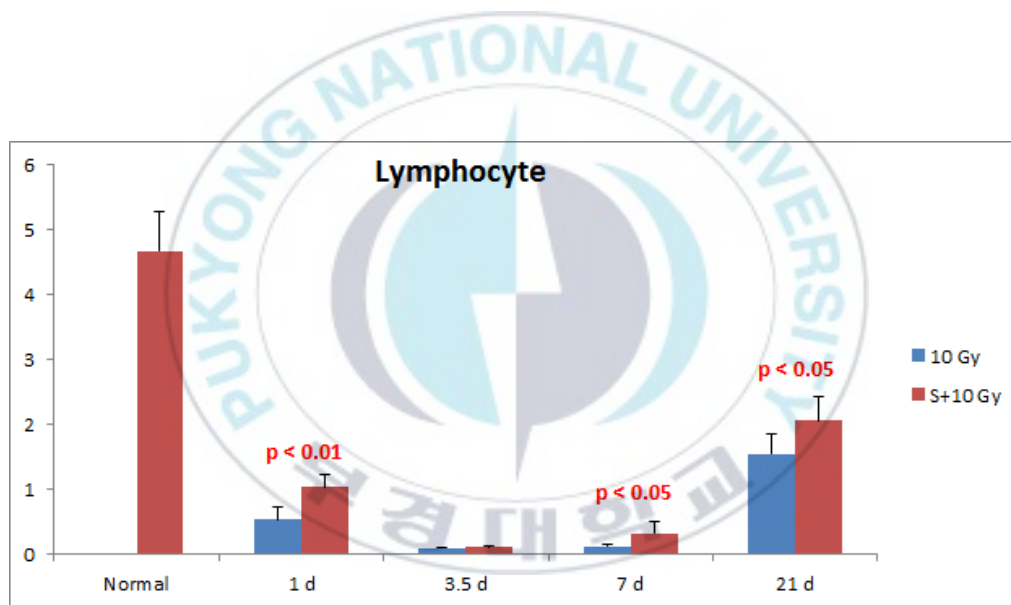


Fig. 4. Lymphocyte variation by date after irradiation

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

다. 방사선 조사 후 호중구 수치의 기간별 변화

방사선 조사 후 호중구 수치의 날짜별 변화를 Fig 5에 나타내었다. 1일차 실험과 3.5일차 실험, 7일차 실험까지 계속되는 하락을 보이며 21일차 실험에서 회복을 보인다. 모든 실험 일정에서 투여 후 조사군(S+10 Gy)의 감소치가 방사선조사군(10 Gy)에 비해 낮았다($p < 0.05$). 그리고 21일차 회복에서도 방사선조사군(10 Gy)보다 투여 후 조사군(S+10 Gy)의 회복이 더 빠른 것을 볼 수 있다($p < 0.05$).

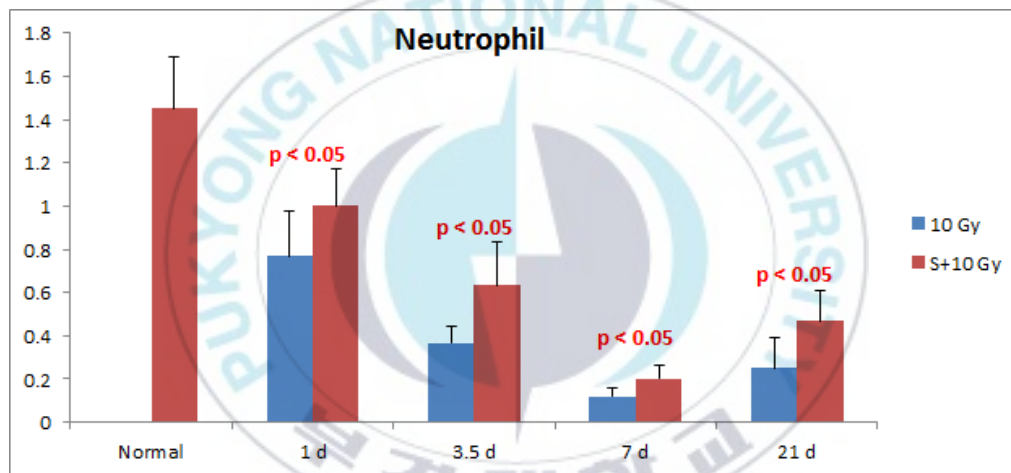


Fig. 5. Neutrophil variation by date after irradiation

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

라. 방사선 조사 후 혈소판 수치의 기간별 변화

방사선 조사 후 혈소판 수치의 날짜별 변화를 Fig 6에 나타내었다. 7일차 실험에서 투여 후 조사군(S+10 Gy)의 감소치가 방사선조사군(10 Gy)에 비해 낮은 것을 볼 수 있다($p < 0.01$). 그리고 21일차 회복에서도 방사선조사군(10 Gy)에 비해 투여 후 조사군(S+10 Gy)이 더 빠른 것을 볼 수 있다($p < 0.05$).

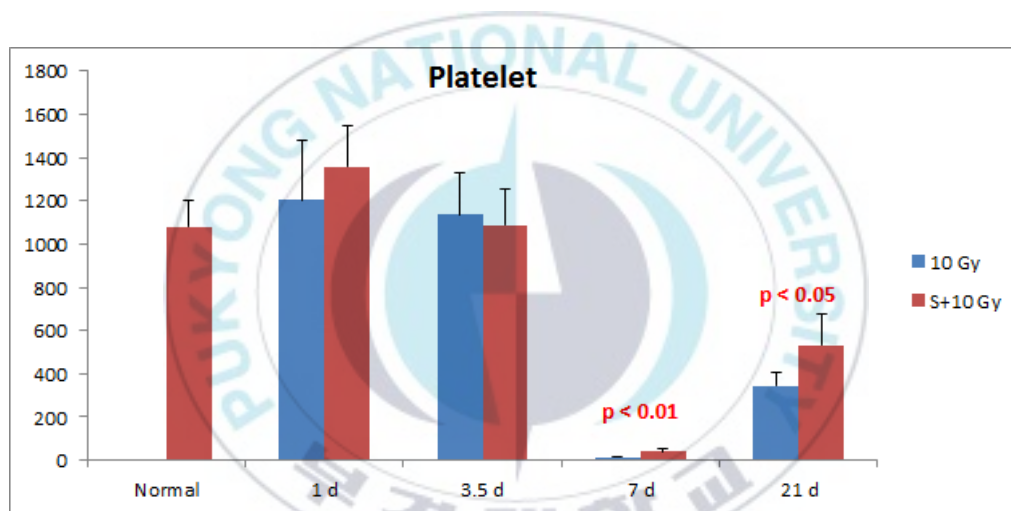


Fig. 6. Platelet variation by date after irradiation

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

마. 방사선 조사 후 적혈구 수치의 기간별 변화

방사선 조사 후 적혈구 수치의 날짜별 변화를 Fig 7에 나타내었다. 7일차 실험까지 변화가 없던 적혈구 수치가 21일차 실험에서 감소를 보였다. 또한 투여 후 조사군(S+10 Gy)의 감소치가 방사선조사군(10 Gy)에 비해 낮은 것을 볼 수 있다 ($p < 0.05$).

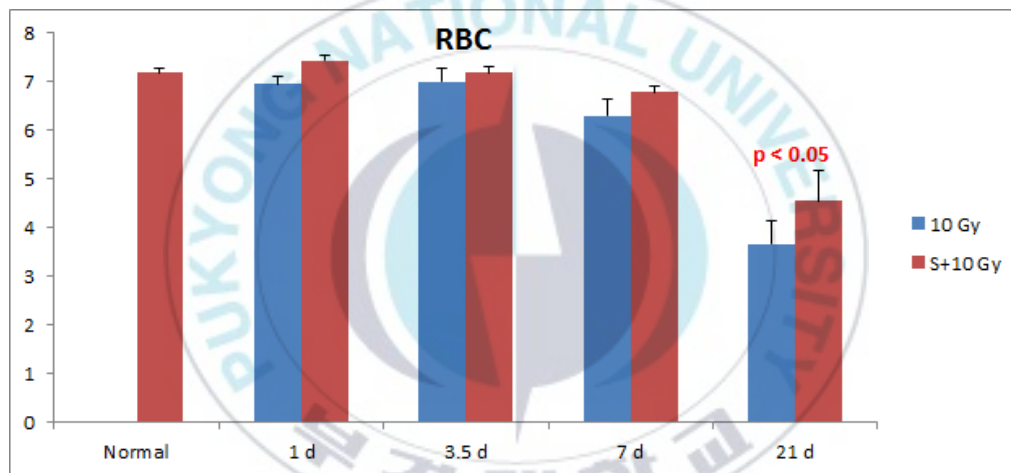


Fig. 7. RBC variation by date after irradiation

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

RBC: red blood cell

2. SOD(superoxide dismutase) 활성도 측정

가. 방사선 조사 후 1일 차 SOD 활성도

방사선 조사 후 1일차 SOD 활성 변화를 Table 7과 Fig. 8에 나타내었다. 방사선을 조사하지 않은 두 실험군(N, S)에 비하여 방사선을 조사한 두 실험군(10 Gy, S+10 Gy)의 혈청에서 낮은 SOD 활성을 보였다. 그리고 방사선조사군(10 Gy)보다 투여 후 조사군(S+10 Gy)에서 활성의 감소가 적었다($p<0.05$).

Table 7. SOD activity level after 1 day of irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
SOD ¹⁾ activity before dilution(U/20ul)	0.080	0.087	0.048	0.068
SOD activity in 1ml of sample(U/ml)	3.980	3.825	2.395	3.395
SOD activity in blood(U/ml)	429.841	413.105	258.660	366.661*

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

¹⁾SOD: Superoxide dismutase

* $p<0.05$ as compared with 10 Gy group

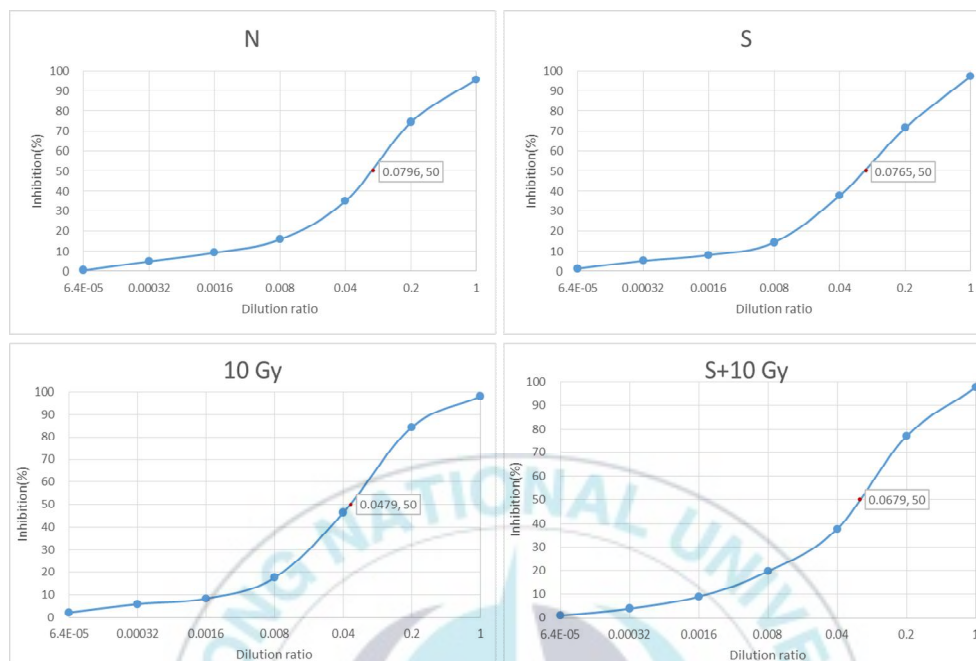


Fig. 8. Graph of SOD active level after 1 day of irradiation

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

나. 방사선 조사 후 3.5일 차 SOD 활성도

방사선 조사 후 3.5일차 SOD 활성 변화를 Table 8과 Fig. 9에 나타내었다. 1일차 실험과 같이 방사선을 조사하지 않은 두 실험군(N, S)에 비하여 방사선을 조사한 두 실험군(10 Gy, S+10 Gy)의 혈청에서 낮은 SOD 활성을 보였다. 그리고 방사선을 조사한 두 실험군의 SOD 활성이 더욱 감소하였다. 그리고 1일차 검사와 같이 방사선조사군(10 Gy)보다 투여 후 조사군(S+10 Gy)에서 활성의 감소가 적었다($p<0.05$).

Table 8. SOD activity level after 3.5 days of irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
SOD ¹⁾ activity before dilution(U/20ul)	0.080	0.073	0.034	0.052
SOD activity in 1ml of sample(U/ml)	3.980	3.673	1.675	2.605
SOD activity in blood(U/ml)	429.841	396.365	180.901	281.341*

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

¹⁾SOD: Superoxide dismutase

* $p<0.05$ as compared with 10 Gy group

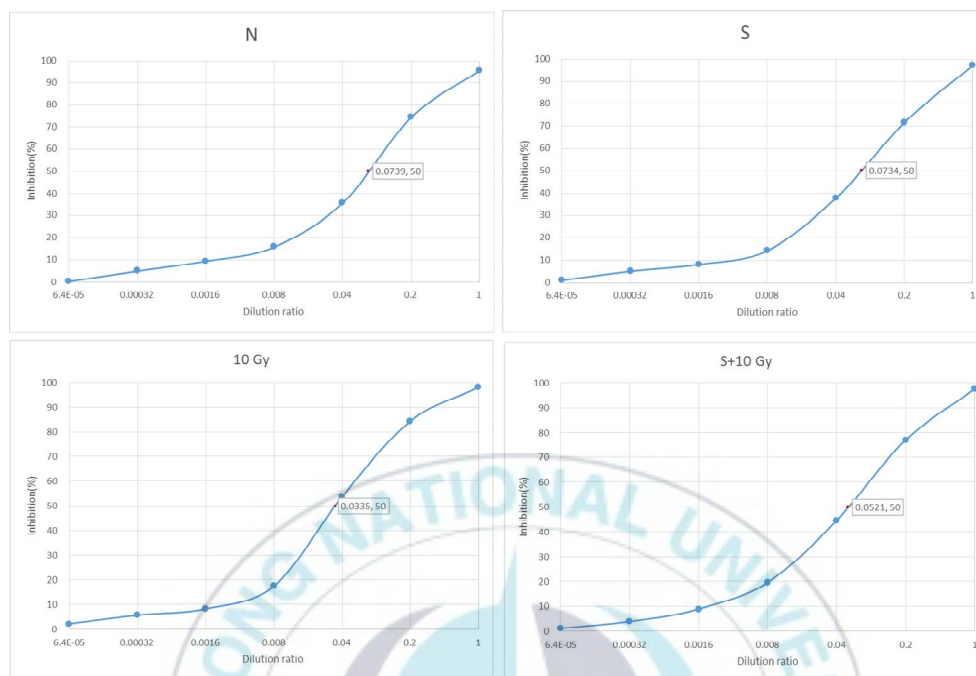


Fig. 9. Graph of SOD active level after 3.5 days of irradiation

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

다. 방사선 조사 후 7일 차 SOD 활성도

방사선 조사 후 7일차 SOD 활성 변화를 Table 9과 Fig. 10에 나타내었다. 1일, 3.5일차 실험과 같이 방사선을 조사하지 않은 두 실험군(N, S)에 비하여 방사선을 조사한 두 실험군(10 Gy, S+10 Gy)의 혈청에서 낮은 SOD 활성을 보였다. 그리고 방사선을 조사한 두 실험군의 SOD 활성의 감소가 계속 진행되고 있다. 1일, 3.5일차 검사와 같이 방사선조사군(10 Gy)보다 투여 후 조사군(S+10 Gy)에서 활성의 감소가 적었다($p<0.05$).

Table 9. SOD activity level after 7 days of irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
SOD ¹⁾ activity before dilution(U/20ul)	0.080	0.080	0.018	0.037
SOD activity in 1ml of sample(U/ml)	3.980	4.015	0.895	1.845
SOD activity in blood(U/ml)	429.841	433.620	96.662	199.260*

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

¹⁾SOD: Superoxide dismutase

* $p<0.05$ as compared with 10 Gy group

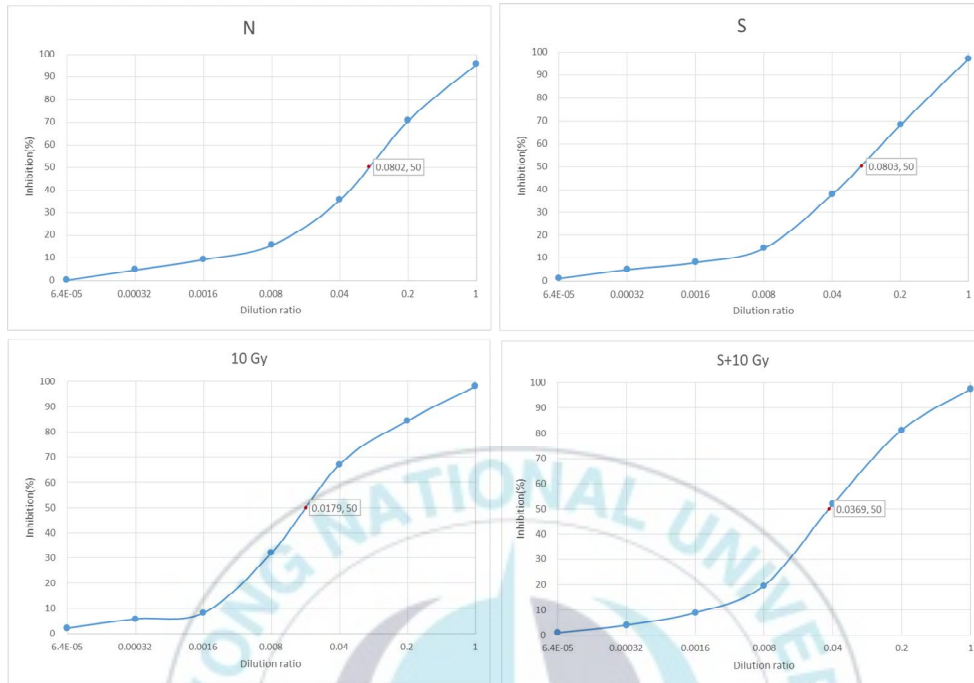


Fig. 10. Graph of SOD active level after 7 days of irradiation

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

라. 방사선 조사 후 21일 차 SOD 활성도

방사선 조사 후 21일차 SOD 활성 변화를 Table 10과 Fig. 11에 나타내었다. 7일차 실험에서 활성도의 최저치를 나타낸 이후 방사선을 조사한 두 실험군의 SOD 활성도가 회복하는 결과를 보였다. 또한 방사선조사군(10 Gy)보다 투여 후 조사군(S+10 Gy)에서의 활성도가 높았다. 방사선조사군(10 Gy)은 대조군 대비 52%로 회복하였으며 투여 후 조사군(S+10 Gy)은 81%로 회복하였다($p<0.05$).

Table 10. SOD activity level after 21 days of irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
SOD ¹⁾ activity before dilution(U/20ul)	0.080	0.088	0.043	0.066
SOD activity in 1ml of sample(U/ml)	3.980	4.415	2.145	3.310
SOD activity in blood(U/ml)	429.841	476.825	231.661	357.480*

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

¹⁾SOD: Superoxide dismutase

* $p<0.05$ as compared with 10 Gy group

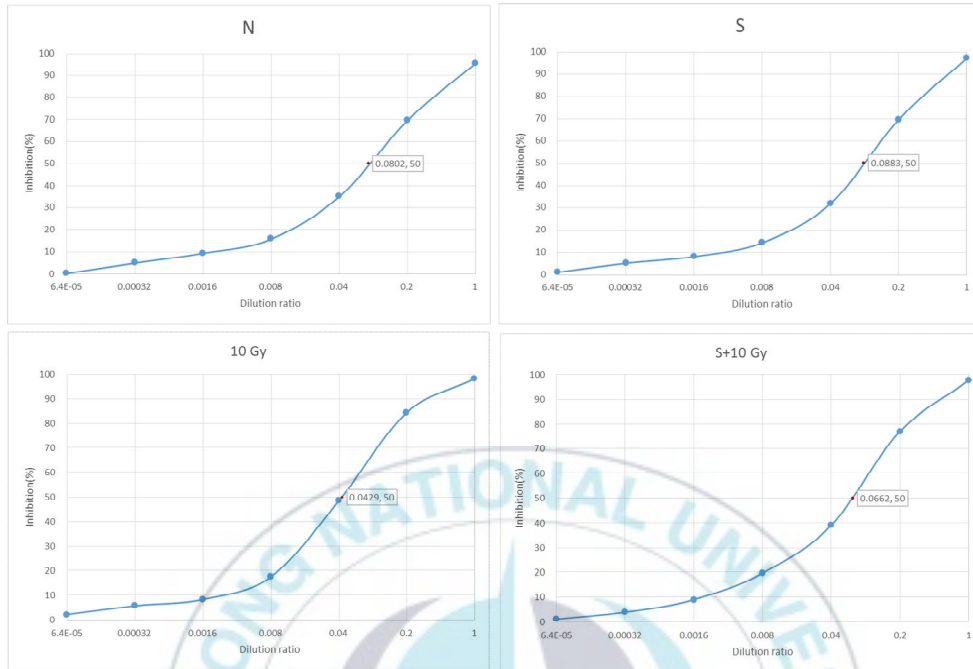


Fig. 11. Graph of SOD active level after 21 days of irradiation

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

3. 체중의 측정

체중을 측정한 결과는 다음과 같다. 먼저 대조군의 체중이 253.5 ± 10.57 g이었다. 투여군의 평균 체중은 309.67 ± 20.3 g, 방사선조사군의 평균 체중은 252.17 ± 9.14 g이었으며 투여 후 조사군의 평균 체중은 256.35 ± 9.6 g이었다. 실험군 간의 유의성은 없었다(Fig. 12).

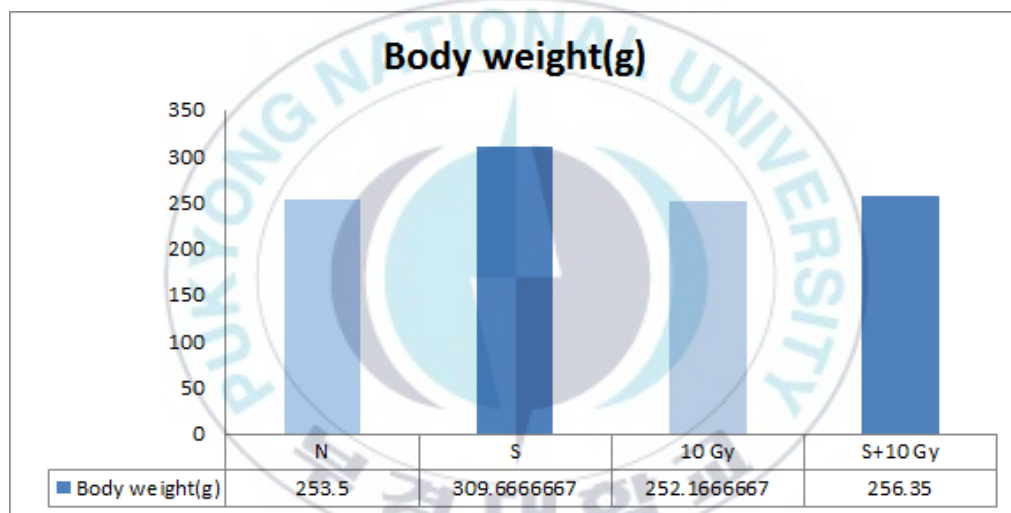


Fig. 12. Comparison of body weight after irradiation

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

4. 뇌 및 비장의 무게 측정

뇌와 비장의 무게를 측정하기 위하여 2% 아이소플루레인(isoflurane)을 사용하여 흡입전신마취 후 복부를 절개하고 비장을 적출한 뒤 목을 절단하고 뇌를 적출하였다. 적출한 조직은 식염수에 세척 후 건조하여 무게를 측정하였고 측정 결과는 다음과 같다.

뇌의 무게는 대조군, 투여군, 방사선조사군, 투여 후 조사군 순으로 1.81 ± 0.1 g, 1.89 ± 0.1 g, 1.77 ± 0.1 g, 1.71 ± 0.1 g 이었다. 모든 실험군에서 비슷하여 유의성 있는 차이를 발견할 수 없었다. 하지만 비장의 무게는 같은 순으로 0.67 ± 0.03 g, 0.81 ± 0.07 g, 0.29 ± 0.04 g, 0.34 ± 0.02 g 이었다. 방사선조사군(0.29 g)과 투여 후 조사군(0.34 g) 사이에서 유의성 있는 차이를 나타냈다($p < 0.05$)(Fig. 13, 14). 방사선 조사군의 비장 무게가 대조군에 비해 43%인 것에 비해 투여 후 조사군의 비장 무게는 대조군에 비해 51%로 방사선조사군 대비 감소가 8% 완화되는 효과가 있었다.

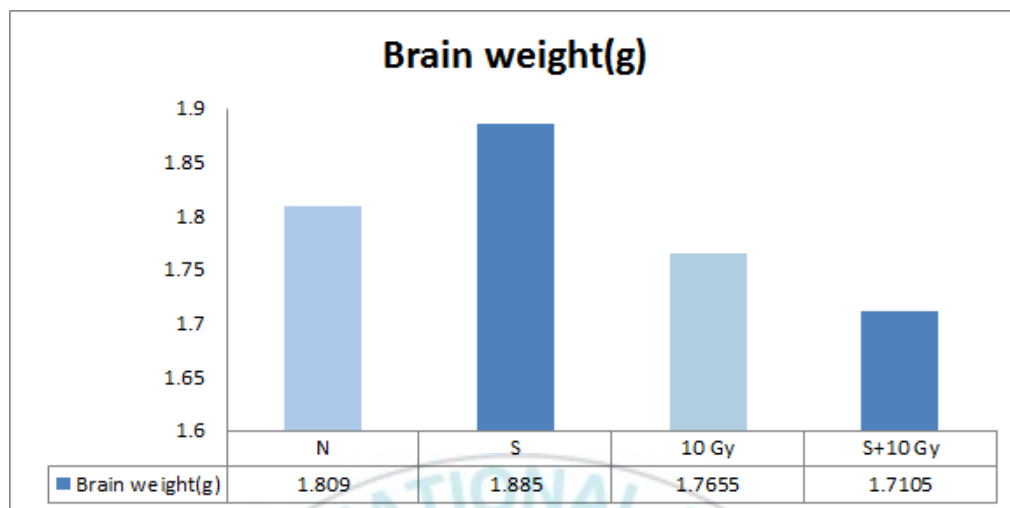


Fig. 13. Comparison of brain weight after irradiation

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

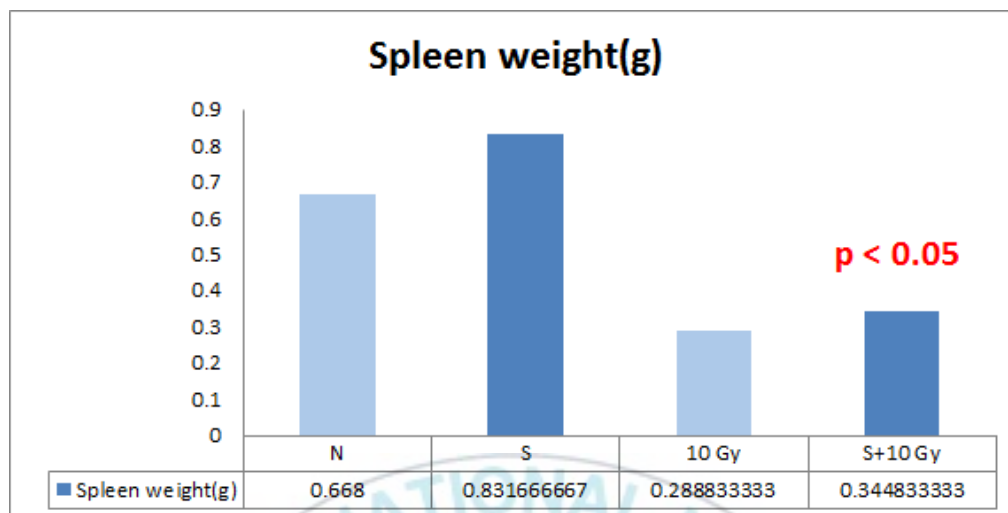


Fig. 14. Comparison of spleen weight after irradiation

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection

10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

p<0.05 as compared with 10 Gy group

5. 조직학적 검사 결과

가. 대뇌피질 두께

흰쥐의 지능과 감각, 운동능력 등의 간접적인 평가를 위해 시행한 대뇌피질 두께의 관찰 결과는 다음과 같다. 대조군, 투여군, 방사선조사군, 투여 후 조사군 순으로 1.46 ± 0.05 mm, 1.43 ± 0.03 mm, 1.40 ± 0.05 mm, 1.40 ± 0.05 mm로 모든 실험군에서 대조군 대비 방사선에 의한 두께 감소 없이 비슷한 결과를 보였다.(Table 11)(Fig. 15). 또한 뇌실질 세포의 관찰에서도 모든 실험군에서 사멸하는 세포를 관찰 할 수 없었다(Fig. 16).

Table 11. Cortical thickness after irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
Cortical thickness(mm)	1.46 ± 0.05	1.43 ± 0.03	1.40 ± 0.05	1.40 ± 0.05

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

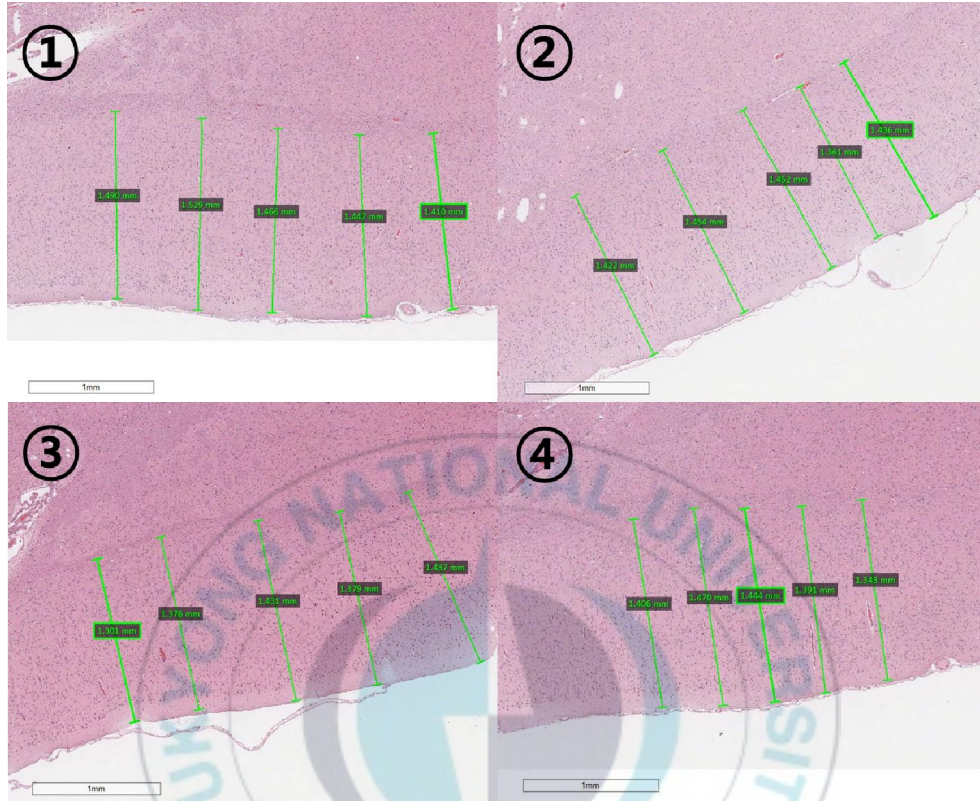


Fig. 15. Photomicrographs of the cortical thickness

- ① N. Normal control
- ② S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection
- ③ 10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)
- ④ S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

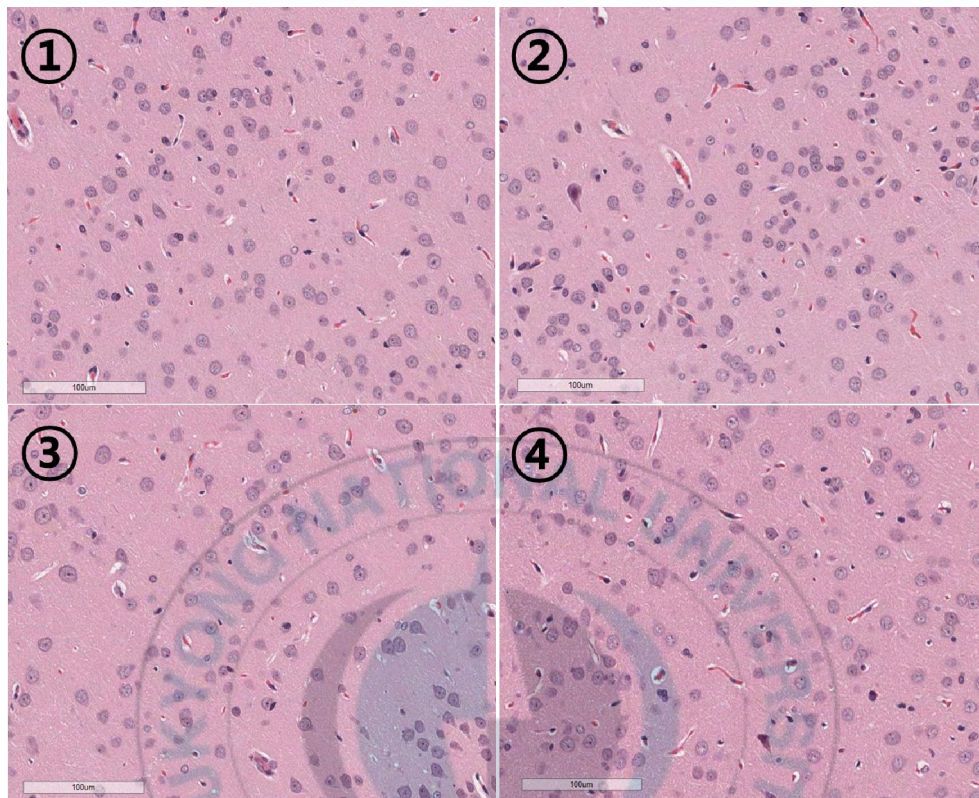


Fig. 16. Photomicrographs of the brain parenchyma cells

- ① N. Normal control
- ② S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection
- ③ 10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)
- ④ S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

나. 소장웁(intestinal crypt) 관찰

방사선조사 후 1일, 3.5일에 소장웁 세포를 관찰하였다. 1일 관찰에서의 소장웁 숫자는 크게 차이는 나지 않는다. 하지만 방사선조사군에서 더 많은 세포의 사멸이 일어나고 있다(Fig. 17 1, 2). 그 결과로 3.5일 실험에서는 방사선조사군의 소장웁 숫자가 크게 줄었다. 그리고 투여 후 조사군에서는 비교적 더 많은 소장웁이 남아 있다(Fig. 17 3, 4).



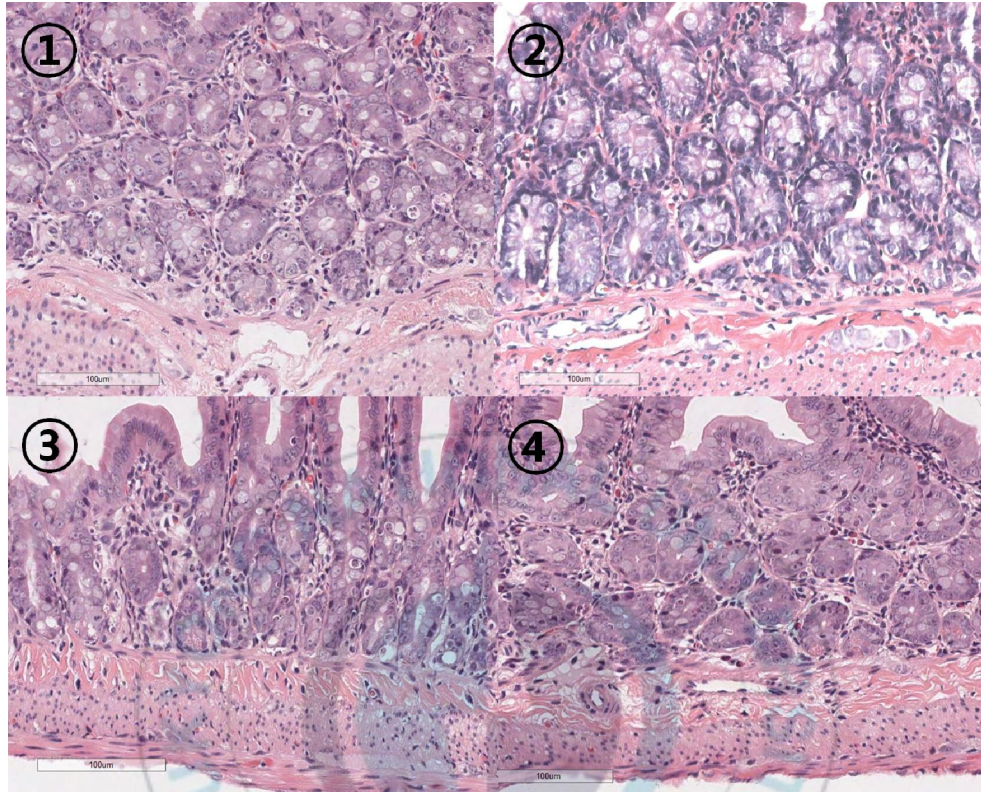


Fig. 17. Photomicrographs of the crypt survival in the jejunal circumference on the H&E stained section of rat intestine at 1 day(1, 2) and 3.5 days(3, 4) after 10 Gy irradiation. Stevia treated group is 2 and 4.

Stevia treated groups(2, 4) are significantly higher number of crypts in the jejunal circumference than irradiation control group (1, 3).

- ① N. Normal control
- ② S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection
- ③ 10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)
- ④ S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

다. 소장용모 길이(villi length)의 관찰

소장용모는 소장암 세포가 분열하여 밖으로 길어져 나오는데, 방사선 조사 후 12~24시간 정도에 소장암 세포(intestinal crypt)의 아포토시스(apoptosis)가 가장 증가하고(Lee EJ 등 2008) 그 결과로 인해 소장용모의 길이가 짧아지는 시간이 3.5일 이후(Marklund와 Marklund 1974)라는 선행논문을 참고하여 1일과 3.5일 혈액 실험과 같이 진행하였다. 그리고 소장용모의 길이 측정은 3마리씩 진행하였으며 1마리당 10개의 소장용모 길이를 측정하여 총 30개의 측정값을 평균하였다. 현미경 사진에 소장용모가 처음부터 끝까지 표현된 것만 측정하였다. 방사선 조사 후 3.5일이 지나서 소장용모의 길이를 측정한 결과를 Table 12와 Fig. 17에 나타내었다. 방사선을 조사한 두 실험군(3, 4)은 모두 소장용모의 길이가 짧아졌으며 투여 후 조사군(609 μm)은 방사선조사군(373.5 μm)보다 대조군 대비 33%의 피해 완화효과가 있었다.

Table 12. Villi length after irradiation

Variables	N	S	10 Gy	S+10 Gy
Villi length(μm)	710.0 $\pm$ 16.7	775.5 $\pm$ 13.9	373.5 $\pm$ 27.6	609.0 $\pm$ 29.8

N. Normal control

S. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection

10 Gy. Normal control + 10 Gy irradiation

S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) was oral injection + 10 Gy irradiation

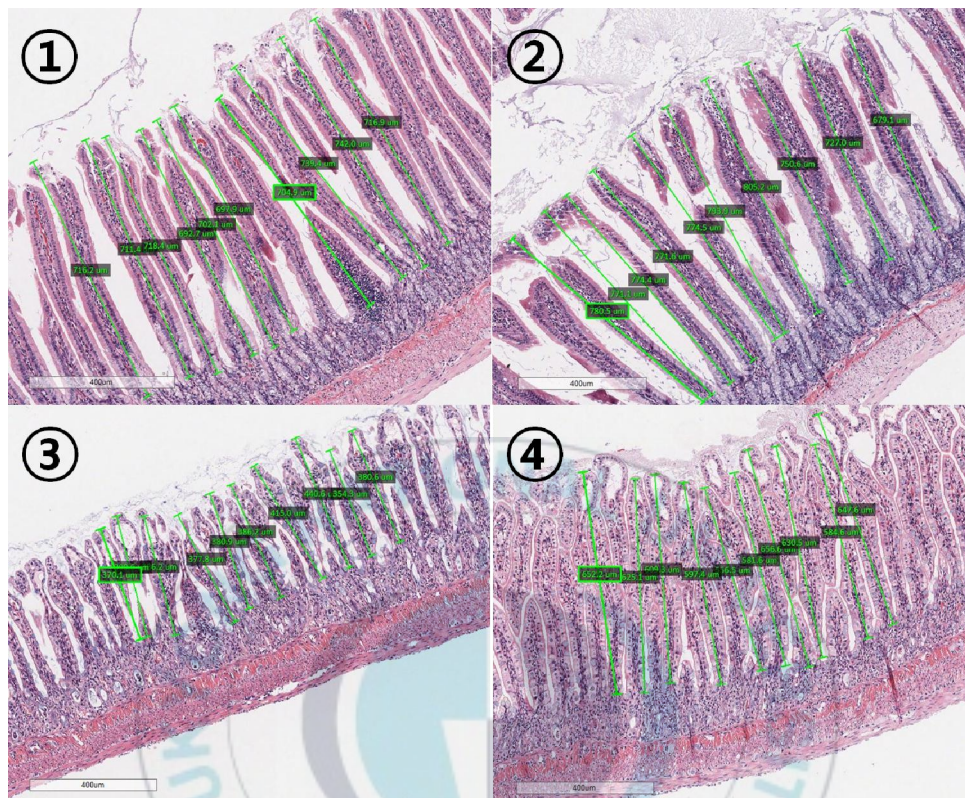


Fig. 18. Photomicrographs of villi length

- ① N. Normal control
- ② S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection
- ③ 10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)
- ④ S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

라. 비장의 관찰

혈소판의 전구체인 거핵세포(megakaryocyte)와 백혈구의 무리인 white pulp를 관찰하기 위하여 3.5일에 비장을 채취하여 관찰하였다(Fig. 18). 거핵세포는 관찰할 수 없었다. 그리고 white pulp는 모든 시료에서 약 4개/1mm²로 숫자는 비슷하게 관찰 되었다. 하지만 방사선조사군(3)에서는 white pulp가 거의 소실되어 가고 있다. 그리고 투여 후 조사군(4)에서는 방사선조사군에 비하여 많이 남아있다.



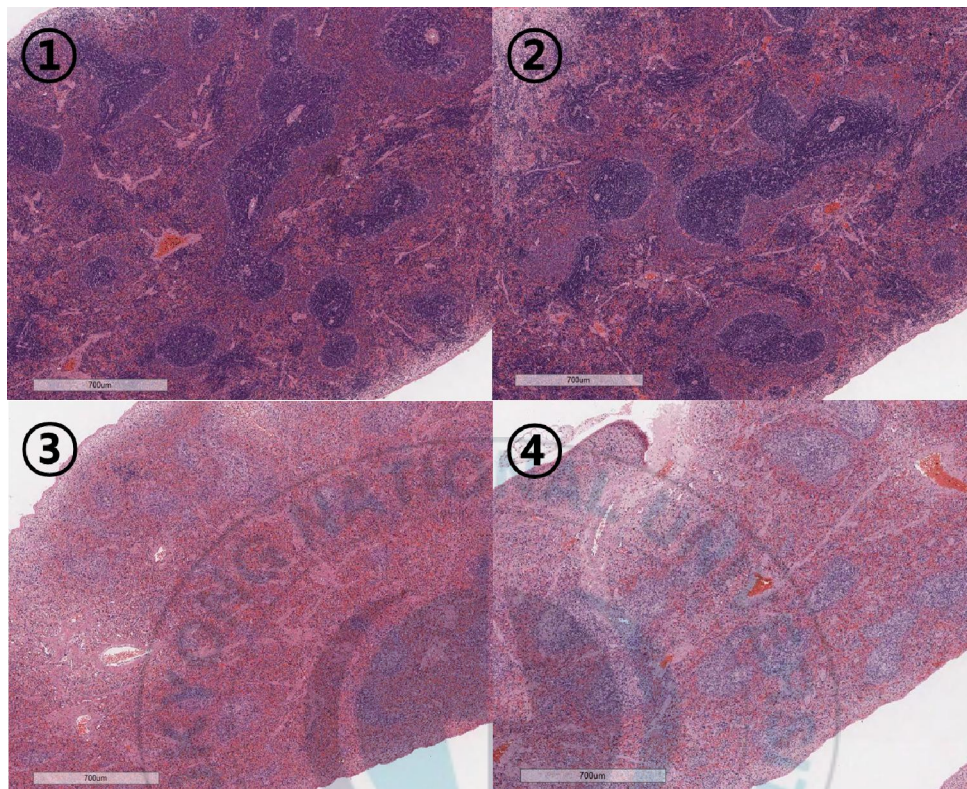


Fig. 19. Photomicrographs of the megakaryocyte and white pulp in the spleen on the H&E stained section of rat abdominal cavity at 3.5 days after 10 Gy irradiation. Stevia treated group is 2 and 4. There are more white pulp left in number 4 than number 3.

- ① N. Normal control
- ② S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection
- ③ 10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)
- ④ S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

라. 간실질 세포의 관찰

수많은 영양소의 대사와 해독 및 살균 등 중요한 기능을 담당하는 간에 있어 스테비아의 보호효과를 확인하기 위하여 간조직의 현미경 검사를 시행하였다. 모든 실험군에서 세포의 사멸은 관찰 할 수 없지만 방사선조사군에서는 간 실질의 구성이 전체적으로 지저분한 경향을 보인다.

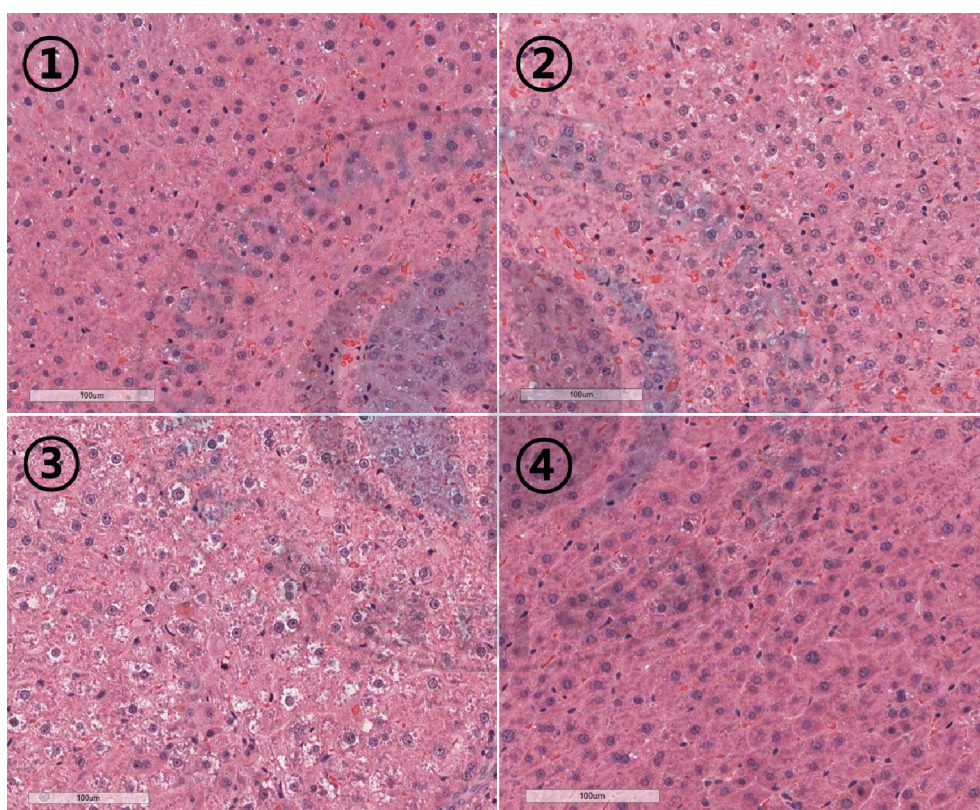


Fig. 20. Photomicrographs of the liver parenchyma cells

- ① N. Normal control
- ② S. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection
- ③ 10 Gy. Normal control + irradiation(10 Gy)
- ④ S+10 Gy. Normal control + stevia(250 mg/kg) oral injection + irradiation(10 Gy)

V. 고찰

생명체의 신진대사, 환경적인 공해로 인해 활성산소가 발생되고 방사선에 의해 급격히 자유라디칼이 생성되는데 이들 물질들은 인체를 공격하여 병들게 하거나 사람을 죽게 만든다. 그래서 인체에는 이들 물질들을 방어하고자 항산화효소가 존재하는데 인체에 존재하는 항산화효소는 제한적이다. 환경적인 문제로 인해 다수로 발생하거나 방사선으로 인해 급격히 발생하는 산화물을 감소시키기 위해 인류는 항산화 물질을 음식으로 섭취한다. 방사선 또는 활성산소종에 의한 피해를 입지 않거나 줄이는 방법은 크게 두 가지로 볼 수 있는데 체내에 존재하고 있는 항산화효소보다 적은 활성산소가 생기도록 하거나 항산화력이 있는 물질을 추가로 섭취하여 항상 항산화 능력을 강화시키는 것이다(Jung DY 등 2016).

급격한 자유라디칼의 생성은 인체에 위협을 주고 있음에도 불구하고 방사선과 원자력은 효율성이 높아 인류의 산업발전과 더불어 사용량은 증가하고 있고 그에 따른 관련 사고에 의한 방사선 피폭은 증가 할 것이다. 원자력 관련 사고를 줄이기 위해서는 규제를 강화하여 사고의 발생 확률을 줄일 수 있는 방안도 있지만 여기에는 한계가 있으므로 시설과 규제를 이용하여 사고를 예방함과 동시에 인체를 방사선에 대한 방어력이 높아지게 하는 것 또한 매우 중요한 일이라 보겠다.

본 연구에서는 인체를 방사선에 대한 방어력이 높아질 수 있도록 하기 위한 일환(一環)으로 스테비아에 대하여 실험하였다. 스테비아는 감미도가 설탕의 200~300배에 달하면서도(Hanson JR & De Oliverira BH 1993) 무독성 저칼로리(Choi SN 등 2014)이며 또한 열에도 강한 성질을 보여(Kroyer GT 1999, Toskulkao C 등 1997) 새로운 천연 감미료로 관심을 받고 있는 식품이다. 그러나 최근 향균 및 향암(Tomita T 등 1997, Toyoda K 등 1997), 특히 항산화(Tadhani MB 등 2007, Sriyani G 등 2007, Yoon JW 등 2016, Kim JH 등 2010) 효과가 있음이 밝혀지면서, 감미료임에도 불구하고 건강식품으로 관심을 받고 있다. 이에 본 연구에서는 항산화력이 높은 스테비아의 방사선에 대한 보호효과를 입증함으로써

스테비아의 새로운 효능을 확인하여 인류에게 방사선 사고에 대한 부담을 줄이는데 도움을 주고 또한 계속되는 천연방사선 보호물질 연구와 식품산업 기술 발전에도 기여 하고자 한다.

스테비아의 방사선에 대한 보호 효과를 확인하기 위해 6주령의 흰쥐에 스테비아 잎 분말 250 mg/kg을 경구 투여하고 10 Gy의 방사선을 전신 조사 한 후 1일, 3.5일, 7일, 21일에 흰쥐를 희생하여 혈액 성분 변화, SOD 활성도, 체중, 뇌 및 비장의 무게, 대뇌 피질, 소장염 세포 및 소장 염모 길이, 비장을 관찰하였다.

혈액 성분 관찰의 1일차 실험에서 림프구의 측정에서 방사선에 의한 초기 림프구 감소의 보호를 확인 할 수 있었으며($p < 0.01$) 호중구의 초기 감소 또한 보호됨을 확인 하였다($p < 0.05$). 3일차 실험에서도 호중구의 측정값이 방사선조사군에 비해 유의하게 높게 측정되었다($p < 0.05$). 림프구와 호중구의 백혈구가 스테비아에 보호받지 못해 많은 감소를 보인 개체는 면역 능력의 부족으로 이후 더 많은 질병이 발생할 수 있다고 본다. 림프구와 호중구는 방사선에 민감해서 작은 양의 방사선에도 빠른 감소를 보인다는 선행연구(Oh YK 등 2002)처럼 본 실험에서도 림프구와 호중구는 빠른 감소를 보였다. 이후 7일, 21일차 실험에서도 혈소판과 적혈구에 있어 스테비아의 방사선에 대한 보호효과를 보여주었다. 그에 따라 혈구의 회복에 있어서도 스테비아에 보호받은 개체가 빠른 회복을 보여줌을 확인하였다.

체내의 강력한 항산화력을 가진 항산화효소로써 항산화 방어계의 핵심 효소인 SOD(superoxide dismutase)는 초과산화이온($\cdot O_2^-$)을 과산화수소(H_2O_2)로 분해시킨다. 그리고 과산화수소는 티오레독신환원효소(TR, thioredoxin reductase)와 글루타티온과산화효소(GPx, glutathione peroxidase)에 의해 물($2H_2O$)로 분해되거나($H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$) 카탈라제(catalase)에 의해 물($2H_2O$)과 산소(O_2)로 분해되면서($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$) 안정화된 성분이 된다(Salin ML 1991, Anderson MD 등 1995, Hong SC 등 2009). SOD가 활성화 될수록 방사선에 대한 저항성이 증가 되었다고 보고(Petkau A 1987)되었는데 본 실험에서도 스테비아 잎 분말 투여 후 조사군에서의 실험결과들이 방사선조사군의 결과에 비해 방사선에 대해서 저항성이 나타났고, 방사선조사군보다 투여 후 조사군에서 SOD 활성도

역시 높게 측정되었다. 또한 Choi SH 등(2017) 연구에서 방사선 조사 후 SOD 활성도의 변화에 있어 7일 측정에서 활성도가 가장 낮게 측정 된 후, 21일차 실험에서 회복을 보이며 투여 후 조사군에서 빠른 회복을 보인 결과처럼 본 실험에서도 SOD 활성의 변화와 회복률에 비슷한 결과를 보였다

이 실험에서 스테비아가 SOD의 활성도를 증가시키는 기전을 직접적으로 확인할 수는 없었지만 위의 결과를 바탕으로 볼 때 스테비아는 SOD의 활성도를 증가시키며 방사선에 대한 저항성을 증가시킨다고 사료 할 수 있겠다.

방사선 피폭에 의한 체중감소를 알아보기 위해 체중을 측정하였지만 모든 실험군에서 체중 차이의 유의성을 관찰할 수 없었다. 이는 10 Gy의 방사선이 단기간에 체중을 줄일 만큼의 고선량은 아니었다고 볼 수 있겠다.

뇌의 무게 측정에서 모든 실험군에 대한 유의성 있는 차이는 발견할 수 없었다. 반면 지능이나 운동력 등은 뇌의 피질 부분에서 작용하는데 뇌의 크기와 피질의 부피는 다를 수 있어 이것의 상관관계를 확인하기 위해서는 추가적인 실험이 필요한 것으로 사료된다.

비장의 무게 측정에서 방사선조사군과 투여 후 조사군 사이에서 유의한 결과를 나타냈다($p < 0.05$). 비장은 방사선에 매우 약해서 방사선이 조사되면 빠르게 무게가 감소한다는 선행연구(Gough GR 등 1977)처럼 본 연구에서도 비장 무게가 빠르게 감소하였다. 비장은 체내에 침투한 세균이나 단백질을 제거하는 면역 기능을 담당하는 기관으로서 림프구와 적혈구를 생산하며 노화된 적혈구와 혈소판 등을 제거하는 역할을 한다. 비장의 무게를 측정함으로써 간접적으로 인체의 면역능력을 확인할 수 있는 바 방사선으로부터 스테비아의 보호를 받은 개체는 그렇지 못한 개체보다 면역력이 증가하여 질병의 노출이 감소할 것을 알 수 있었다.

대뇌피질, 뇌실질 세포, 간실질 세포의 실험에서는 방사선에 의한 세포의 사멸을 확인 할 수 없었기에, 스테비아 잎 분말의 보호효과를 확인 할 수 없었다. 뇌와 간 세포는 비교적 방사선에 저항성이어서 위 조직을 이용하여 보호효과를 확인하기 위해서는 본 실험에서 선택한 방사선의 양보다 많은 양의 방사선의 조사가 필요하였다(Choi JE 등 1995). 따라서 이 세 가지를 이용한 실험은 방사선의 양을 다

르게 한 실험으로 진행되어야 한다고 본다.

소장용모의 길이 관찰에서, 스테비아를 투여하고 방사선을 조사한 실험군이 사전준비 없이 방사선을 조사한 방사선조사군에 비해 소장용모 손실의 33% 피해 완화 효과가 있었다. 그것은 스테비아에 의해 소장용모가 보호되면서 그 결과로 소장용모의 길이가 대조군에 더욱 가깝게 유지된 것이라 볼 수 있다. 입을 통해 섭취한 음식의 분해 후 처음으로 흡수를 시작하는 부분이 공장(jejunum)이다. 따라서 많은 양의 영양분을 흡수하기 위해 용모를 만들어 음식물과의 접촉면적을 넓게 한다. 스테비아를 투여한 개체는 방사선에 의한 용모 손실을 줄여주어 약간의 길이가 감소 후 회복하겠지만 소장용모의 피해가 큰 개체는 이후 영양분 흡수가 다량 줄어 아사(餓死)의 가능성을 배제할 수 없다. 비장의 조직학적 관찰에서 투여 후 조사군에서의 white pulp가 방사선조사군에 비해서 대조군에 가깝게 유지되고 있는 결과는 비장의 무게 측정과 혈구 측정에서 림프구 등이 보여준 결과와 상호적인 결과로 보여진다.

본 실험에서는 천연감미료로 각광을 받고 있는 스테비아의 또 다른 효능인 방사선에 대한 보호효과에 대하여 연구하였다. 위 실험결과들로 보아 스테비아 성분은 방사선으로부터 인체를 보호하는 효과가 있음을 확인하였다. 이 연구결과들을 바탕으로 차후 임상적으로 이용되는 스테비아의 천연물방호제 관련 연구를 위한 기초자료로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

VI. 결론

건강에 도움을 주는 천연감미료로 각광을 받고 있는 스테비아의 또 다른 효능인 방호효과를 보고자 혈액성분, SOD 활성 및 뇌, 비장 무게와 대뇌 피질, 소장염 세포 및 소장 용모 길이, 비장 등의 조직학적 실험을 실시하였다.

혈액 성분의 실험에서 1일 차에 림프구의 측정값이 방사선조사군에 비하여 높게 측정되었으며($p<0.01$) 호중구의 측정값이 방사선조사군에 비하여 높게 측정되었다($p<0.05$). 또한 3.5일 차에 호중구의 측정값이 방사선조사군에 비하여 유의하게 높은 결과를 보였다($p<0.05$), 그리고 7일, 14일 실험의 혈소판($p<0.05$), 적혈구($p<0.05$) 모두에서 방사선에 대한 방어에 있어 유의한 결과를 확인하였다. 따라서 스테비아 잎 분말의 투여는 방사선으로부터 조혈면역계의 손상을 경감시키는 효과가 있었다.

방사선 조사 후 SOD의 활성 관찰에서는 통계적 유의성을 관찰할 수는 없지만 방사선조사군에 비하여 투여 후 조사군에서 SOD 활성이 높게 관찰되었다. 또한 21일차 실험에서는 방사선조사군(52%) 대비 투여 후 조사군(81%)의 회복이 많은 차이(29%)를 보였다. 이는 스테비아 잎 분말이 방사선으로부터 혈청을 보호하는 효과와 더불어 SOD의 유사활성을 증가시킴으로서 항산화작용을 더욱 증가시키는 것으로 판단된다.

체중과 뇌 및 비장의 무게 측정에서 체중과 뇌의 무게에서는 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 하지만 비장의 무게에서는 유의성 있는 차이를 나타내었다. 혈액 성분 실험과 마찬가지로 스테비아 잎 분말이 조혈면역계의 손상을 경감시켜 주었다.

조직학적 관찰에서, 대뇌 피질, 뇌실질 세포, 간실질 세포의 실험에서는 방사선량의 부족으로 세포의 사멸을 관찰할 수 없어 스테비아 잎 분말의 보호효과를 확인할 수 없었지만 공장(jejunum) 부분을 이용한 소장염 관찰 실험에서 스테비아 잎 분말의 방사선에 대한 보호효과를 확인 할 수 있었다. 소장염에서 발생하는 소

장용모의 길이 관찰에서도 역시 스테비아 잎 분말의 보호효과를 확인 할 수 있었다. 그리고 마지막으로 비장의 조직학적 관찰에서도 스테비아 잎 분말의 보호효과를 확인 할 수 있었다.

결론적으로, 본 연구에서 스테비아 잎 분말은 흰쥐에 있어 방사선으로부터 조혈면역계(림프구, 호중구, 혈소판, 적혈구)를 보호해주며, 항산화효소인 SOD의 활성을 증가시켜 주고 비장과 소장의 세포 손상을 감소시켜 주는 것을 확인하였다. 따라서 스테비아 잎 분말은 방사선으로부터 인체를 보호해 주는 천연식품 방사선방호제로 사용 될 수 있을 것이라 판단된다.



VII. 참고문헌

- Anderson MD, Prasad TK, Stewart CR. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol* 109(4):1247-1257.
- Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. 1985. Role of metals in oxygen radical reactions. *J Free Radic Biol Med* 1(1):3-25.
- Awasthi YC, Beutler E, Srivastava SK. 1975. Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 250(13):5144-5149.
- Back SE. 2008. Sensory properties of low calorie Ssanhwa beverages containing sweetener(I)-Relative sweetness and sensory properties of Ssanhwa beverages sweetened with glucosyl stevia, accesulfame-K and aspartame. *Korean J Food Nutr* 21(2):190-196.
- Birch-Machin MA, Russell EV, Latimer JA. 2013. Mitochondrial DNA damage as a biomarker for ultraviolet radiation exposure and oxidative stress. *Br J Dermatol* 169(2):9-14.
- Bodaness RS, Chan PC. 1977. Singlet oxygen as a mediator in the hematoporphyrin-catalyzed photooxidation of NADPH to NADP⁺ in deuterium oxide. *J Biol Chem* 252(23):8554-8560.
- Bowen, EK. 1978. Basic Radiological Physics. Philip Rubin, Clinical Oncology, 5th ed, Rochester Co, Published by the America Cancer Society NY USA:290-295.
- Bowler CW, Van Camp M, Can Montagu, Inze D. 1994. Superoxide dismutase in plants. *CRC Rev Plant Sci* 13(3):199-218.
- Byun MW. 2012. Anti-Inflammatory Activity of Austroinulin from *Stevia rebaudiana* in LPS-induced RAW264.7 Cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr*

41(4):456-461.

- Chan P, Xu DY, Liu JC, Chen YJ, Tomlinson B, Huang WP, Cheng JT. 1998. The effect of stevioside on blood pressure and plasma catecholamines in spontaneously hypertension rats. *Life Sci.* 63(19):1679-1684.
- Choi HS, Choi JH, Jung DY, Kim JO, Shin JH, Min BI. 2017. Effect of Selenium on the Thyroid gland Antioxidative Metabolisms in Rat Model by Ionizing Radiation. *J Radiol Sci Technol* 40(1):135-142.
- Choi JE, Shin HY, Kim IO, Yeon KM, Chae IY, Cho SC, Hwang YS, Ahn HS. 1995. Effects of cancer nervous System Irradiation on Neuropsychologic Functioning in Long - term Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Korean Cancer Assoc* 27(2):303-316.
- Choi JH, Ji TJ, Min BY. 2013. Radioprotective Effects of Dandelion. *J Korea Cont Assoc* 13(1):287-293.
- Choi JH, Kim YS, Lee KM, Kim HJ. 2004. The Effects of Red-ginseng Intaking on Free Radical Produced During Aerobic Exercise in the Elderly. *J Ginseng Res* 28(1):27-32.
- Choi JH, Park YH, Lee IS, Lee SP, Yu MH. 2013. Antioxidant Activity and Inhibitory Effect of Aster scaber Thunb. Extract on Adipocyte Differentiation in 3T3-L1 Cells. *Korean J Food Sci Technol* 45(3):356-363.
- Choi SN, Joo MK, Chung NY. 2014. Quality Characteristics of Soybean Milk Added with Stevia Leaf Powder. *J Korean Diet Assoc* 20(2):77-86.
- Choi SN, Lee KJ, Joo MK, Chung NY. 2017. Quality Characteristics of Radish Pickles added with Different Amounts of Stevia Leaf. *J East Asian Soc Diet Life* 27(3):295-303.
- Choi SY, Jang EG, Hwang IK. 2005. The sensory characteristics and estimation of shelf-life by Q10 values with mixtures of highintensity sweeteners for beverage during storage. *Korean J Food Cookery SCI*

- 21(2):235-242.
- Choi YS, Jung MY, Soh WY, Han MS, Yeo UD. 2011. Changes of Antioxidant Enzymes in Stevia Plants under Clinorotation, Shaking, and Low Temperature Stresses. *Korean J Plant Res* 24(4):343-350.
- Christen Y. 2000. Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr* 71(2):621-629.
- Chua SC, Leibel RL. 1996. Obesity genes: Molecular and metabolic mechanisms. *Diabetes* 5(1):2-7.
- Chung HY, Sung B, Jung KJ, Zou Y, Yu BP. 2006. The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid Redox Sign* 8(3):572-581.
- Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolics: Extraction, analysis, and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15(10):7313-7352.
- Do KH. 2011. The health effects of low-dose radiation exposure, *J Korean Med Assoc* 54(12):1253-1261.
- Donnelly JK, McLellan KM, Walker JL, Robinson DS. 1989. Superoxide dismutase in foods. A review. *Food Chem* 33(4):243-270.
- Dyrskog SE, Jeppersen PB, Colombo M, Abudula R, Hermansen K. 2005. Preventive effects of a soy-based diet supplemented with stevioside on the development of the metabolic syndrome and type 2 diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Metabolism* 54(9):1181-1189.
- Fridovich, I. 1978. The biology of oxygen radicals. *Science* 201(4359):875-880.
- Ghanta S, Banerjee A, Poddar A, Chattopadhyay S. 2007. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of Stevia rebaudiana Bertoi, a natural sweetener. *J Agric food Chem* 55(26):10962-10967.
- Gough GR, Boggs SS, Schwartz GN. 1977. Changes in thymus size observed radiographically during the course of spontaneous lymphoma in the AKR/J mouse. *Lab Anim Sci* 27(5):627-661.

- Gurpreet K, Sarwar A, Zoobi J, Kaleem J, Mohammad A. 2006. Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers. *J Ethnopharmacol* 108(3):340-348.
- Haimovitz-Friedman A, Kan CC, Ehleiter D, Persaud RA, McLoughlin M, Fuks J, Kolesnick RN. 1994. Ionizing radiation acts on cellular membranes generate ceramide and initiate apoptosis. *J Exp Med* 180(2):525-535.
- Hall EJ. 1988. *Radiobiology for the Radiologist*. 3rd ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia. 365-376.
- Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. 1992. Free radicals, antioxidants and human disease. *J Lab Clin Med* 119(6):598-620.
- Han EO. 2011. Difference in Understanding of the Need for Using Radiation in Various Fields between Students Majoring in Radiation and Non-Radiation Related Studies. *J Radiat Prot Res* 36(4):230-236.
- Hanson JR, De Oliverira BH. 1993. Stevioside and related sweet diterpenoid glycosides. *Nat Prod Prp* 10(3):301-309.
- Hong HY. 2009. Sensory evaluation and quality characteristics of low caloric muffin by the addition of stevia leaf powder. MS thesis, Sejong University of Korea.
- Hong SC, Jeong JB, Park GH, Kim JS, Seo EW, Jeong HJ. 2009. Anti-oxidant Effect of *Agastache rugosa* on oxidative damage induced by H_2O_2 in NIH 3T3 cell. *Korean J Plant Res* 22(6):498-505.
- Jang SI, Lee JH. 2013. Radioprotective effects of Blueberry on the liver of radiation irradiated rats. *Korean J Radiol* 7(3):239-244.
- Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chem* 73(3):285-290.
- Jeong CS, Oh HJ, Lee JE, Jo SM, Park SH. 2013. Analysis of Dose by Items

- According to Act on Safety Control of Radiation Around Living Environment. Korean J Radiol 7(6):377-381.
- Jeong DH. 2012. Physicochemical and functional properties of soymilk with buckwheat sprout addition. Masters degree thesis. The Graduate School of Sookmyung Women's University
- Ji TJ, Lee SH. 2010. Radiation Damage Mechanism of the Small Intestine's Absorptive Epithelium and Radioprotection Effect after Propolis Abdominal Cavity Injection. J Korea Cont Assoc 10(7):297-304.
- Jung DY, Cho iHS, KimJO, Shin JH, Kim JH, Park GJ, Min BI. 2018. Radiation Protective Effect of Selenium and Folic Acid Mixtures in the Development of Congenital Anomalies Following Radiation Exposure to the Fetus of Perinatal Female White Rats. J Radiol Sci Technol 41(2):157-162.
- Jung DY, Choi JH, Kim JS, Cho iHS, Bae MJ, Park WS, Min BI. 2016. The Protective Effects of Black Garlic Extract for Blood and Intestinal Mucosa to Irradiation. J Radiol Sci Technol 39(1):19-26.
- Jung HM, Jung JE. 2017. Measurement of the Natural Radiation Dose in the Ski Field(Focusing on the Gyeonggi Province area). J Korean Soc Radiol 11(3):117-122.
- Jung IY. 2005. Antioxidant activity and radioprotection of two flavonoids from Propolis. Korean J Food Nutr 34(2):162-165.
- Kang AJ, Nam YR, Rho JK, Jang BS, Chung YJ, Park SH. 2015. Radioprotective Effects of Post-Treatment with Hesperetin against γ -Irradiation-Induced Tissue Damage and Oxidative Stress in BALB/c Mice. J Korean Soc Food Sci Nutr 44(5):657~663.
- Kang JH, Kim NS. 2002. Secular trend of obesity prevalence in Korea. Korean Soc Study of Obes 11(4):329-336.
- Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological

- functionality of pine needle and mugwort extracts. Korean J Food Sci Technol 125(6):978-984.
- Kee HS, Sohn EH, Park YC, Yu IJ, Maeng SH, Chung HW. 1997. An anti-clastogenic Role of Selenium in Arsenic- and Chromium-induced Oxidative Stress Causing Chromosomal Damage. Kor J Env Hlth Soc 23(4):9-5.
- Kim AR, Bing SJ, Cho JH, Ahn GN, Jeon YJ, Jee YH. 2015. Protective effect of Hizikia fusiforme on radiation-induced damage in splenocytes. Korean J Veteri Res 55(1):21-30.
- Kim CG, Park BS. 2012. The evaluation of the radiation dose and the image quality during MDCT using Glass Rod Detector. Korea Soc Digit Polic Manage 10(2):249-254.
- Kim DJ, Kwon CK, Choi DJ, Ka KH, Kim TM, Kim BT, Lee BK, Hwang JH, Ann ES, Kim DY. 2009. Effects of nutritional education and exercise intervention on improvement of diet intakes and metabolic risk factors in obese middle aged women. Korean Soc Exerc Nutr 13(3):179-184.
- Kim DY, Chang JC. 1998. Radioprotective effect of Ginseng components on antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation of liver in γ -irradiated mice. Journal Ginseng Res 22(1):1-10.
- Kim EJ, Choi JY, Yu1 MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. 2012. Total Polyphenols, Total Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of Korean Natural and Medicinal Plants. korean J Food Sci Techol 44(3):337-342.
- Kim GY, Kim KY, Jeong HU. 2006. Immunostimulating Effects of canthopanax in mice following Gamma-ray irradiation. Korean J Physiol Pathol Med 20(3):670-674.
- Kim HI, Lee BM. 1996. Stevioside, a natural sweeteners. J Food Hyg Safety 11:323-327.

- Kim JH, Lee HG, Park JH, Ryu JD. 2004. Effect of dill and stevia hot-water extracts on quality and sensory characteristics of Kimchi. Korean J Food Nutr 17(1):25-31.
- Kim JH, Sung NY, Kwon SK, Jung PM, Choi JI, Yoon YH, Song BS, Yoon TY, Kee HJ, Lee JW. 2010. Antioxidant Activity of Stevia Leaf Extracts Prepared by Various Extraction Methods. Korean J Food Nutr 39(2):313-318.
- Kim JH. 2010. Spotlight Functional Sweeteners. Food Indus Nutr 15(2):26-28.
- Kim JO, Choi JH, Shin JH, Min BI. 2016. The Effects of Cynanchi wilfordii Radix Ethanol Extracts upon Irradiated Rat's Blood and Organ. J Radiol Sci Technol 39(3):451-459.
- Kim JS, Ahn BK, Choi HS, Choi DB, Yeom JM, Kim SP, Lee IS, Cho MJ, Cha WS. 2015. A Study on the Radioprotective Effects of Foods -Focusing on the Glycobiological Properties of Mushrooms. Korean Soc Biotechnol Bioengine 30(1):11-20.
- Kim KY, Jeong HW, Kim GY. 2005. Immunostimulating effects of angelica gigas by radio-protective. Korean J Physiol Pathol Med 19(5):1256-1260.
- Kim SH, Han DW. 1996. The radioprotective effect of Panax ginseng on the hair medullary cell in irradiated mice. J Ginseng Res 44(2):149-153.
- Kim SH, Lee HJ, Kim SR, Lee JH, Jo SG, Na Sy, Son CH, Shin DH. 2001. Effect of Red Ginseng, White Ginseng and Diethyldithiocarbamate in Irradiated Mice. J Ginseng Res 2(25):68-73.
- Kim SH, Oh H, Lee SE, Jo SK, Byun MW. 1998. Effect of Si-Wu-Tang and Si-Jun-Zi-Tang on the survival of jejunal crypt cells and hematopoietic cells on irradiated mice. J Korean Soc Food Sci Nutr 30(4):888-894.
- Kim SJ, Han DS, Moon KD, Rhee JS. 1995. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. Biosci Biotech Biochem 59(5):822-826.

- Kim WS. 2005. Epilepsy and Oxygen Free Radicals. *Korean J Pediatr* 48(9):920-923.
- Kim YH, Kim SB, Kim SJ, Park SW. 2016. Market and trend of alternative sweeteners. *Food Sci Ind* 49(3):17-28.
- Kim YS, Lee SK, Jeong DY, Yang EJ, Shin DH. 2007. Effect of powder of *Stevia rebaudiana* leaves against quality characteristics during salting of rice bran Danmooji. *Korean J Food Preserv* 14(5):497-503.
- Korkina LG, Afanas'ev IB. 1997. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol* 38:151-163.
- Korycka-Dah M T, Richardson T, Hicks CL. 1979. Superoxide dismutase activity in bovine milk serum. *J Food Protein* 42(11):867-871.
- Kovacic P, Jacintho JD. 2001. Mechanisms of carcinogenesis: Focus on oxidative stress and electron transfer. *Curr Med Chem* 8(7):773-796.
- Koyama E, Sakai N, Ohori Y, Kitazawa K, Izawa O, Kakegawa K, Fujino A, Ui M. 2003. Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of stevia mixture and their aglycone, steviol, in rats and humans. *Food Chem Toxicol* 41(6):857-883.
- Kroyer GT. 1999. The low calorie sweetener stevioside: stability and interaction with food ingredients. Institute of Food Chemistry and Technology, University of Technology Vienna Academic Press, 15th July.
- Lailerd N, Saengsirisuwan V, Sloniger JA, Toskulkao C, Henriksen E. 2004. Effects of stevioside on glucose transport activity in insulin-sensitive and insulin-resistant rat skeletal muscle. *Metabolism* 53(1):101-108.
- Lee C, Kim KY, Ryu BH, Lim KJ. 2003. Evaluation of Radiation Degradation or Crosslinked Polyethylene using TGA, *Korean Soc Safe* 18(2):50-55.
- Lee EJ, Kim JS, Kwon JH. 2008. Optimization of Microwave-assisted Extraction Conditions for Total Catechin and Electron Donating Ability of

- Grape Seed Extracts, Korean J Food Preserv 15(6):840-846.
- Lee HJ, Kim JS, Moon C, 2008. Relative Biological Effectiveness of Fast Neutrons in a Multiorgan Assay for Apoptosis in Mouse. Environ Toxicol 23(2):233-239.
- Lee HJ, Lee SB. 2007. Analysis of Changed Bio-Signal to Radiation Exposure of Nuclear Medicine Worker. J Radiat Prot Res 32(1):27-34.
- Lee JA. 2017. Analysis of Individual Exposure Dose of Workers and Clinical Practice Students in Radiation Management Area. J Korea Cont Assoc 17(11):383-388.
- Lee JU. 2008. Past, present and future of tea culture industry. 1th Symposium of the world's tea. Convention Center, Seoul, Korea:85-93.
- Lee SH, Hong LJ, Park HG, Ju SS, Kim GT. 2003. Functional characteristics from the barley leaves and its antioxidant mixture. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 46(4):333-337.
- Lee SH, Ro JS, Lee KS, Ahn YJ, Kang SJ, Hwang BY, Park WY, Ahn BT. 1996. The phenolic components of Sapium japonicum. Yakhak Hoeji 40(2):183-192.
- Lee SJ, Park GY, Kim GY. 1993. Effects of Dietary Vitamin E and Selenium on Hematopoiesis and Antioxidative Detoxification Mechanism in Lead Poisoned Rats. Korean J Food Nutr 22(6):651-657.
- Lee SY, Wi HR, Lee MS. 2011. Comparison of the Antioxidant Effects of Diallyl Sulfide, Capsaicin, Gingerol and Sulforaphane in H₂O₂-stressed HepG2 Cells. Korean J Nutr 44(6):488-497.
- Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. 2011. Antioxidant Activity in Water and Methanol Extracts from Korean Edible Wild Plants. J Korean Soc Food Sci Nutr 40(1):29-36.
- Lim JA, Na YS, Baek SH. 2004. Antioxidative activity and nitrite scavenging

- ability of ethanol extract from *Phyllostachys bambusoides*. Korean J Food Sci Technol 36(2):306-310.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem. 47(3):468.
- McKersie BD, Chen YR, de Beus Y, Bowler SR, Inze D, Halluin K, Botterman J. 1993. Superoxide dismutase enhances tolerance of freezing stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant Physiol 103(4):1155-1163.
- Nho JH, Jang JH, Jung HK, Lee MJ, Sim MO, Jung DE, Cho HW. 2018. Ethanol Extracts from *Astilbe chinensis* (Maxim.) Franch. Et Savat. Exhibit Inhibitory Activities on Oxidative Stress Generation and Viability of Human Colorectal Cancer Cells. Korean J Med Crop Sci 26(2):141-147
- Noh MH. 2005. The quality properties of Seolgideok added with stevia leaf powder. MS thesis, Sunchon National University of Korea.
- Nunomura A, Castellani R, Zhu X, Moreira P, Perry G, Smith M. 2006. Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. J Neuropathol Exp Neur 65(7):631-641.
- Oh YK, Ha CS, Park HC, Lee SI, Ryu SY, Kee KH, Jeon HJ. 2002. Lymphopenia after Mediastinal Irradiation in Lung Cancer, Korean Soc radiat oncol 20(1):34-40.
- Packer , Colman C. 1999. The antioxidant miracle; Your complete plan for total health and healing. USA John Wiley & Sons, Inc.
- Park DC, Lee YH. 1997. Production, transglycosylation and application of stevioside. J Korean Soc Food Sci Nutr 2(1):31-41.
- Park HR, Kim SH, Yee ST, Byun MW, Jo SK. 2005. Effect of a Herb Mixture (HIM-I) on the Protection of the Hematopoietic-Immune System and Self-renewal Tissues against Radiation Damage. J Korean Soc Food Sci

- Nutr 34(5):605-612.
- Park HW, Seung JS, Kim MH, Chung EJ, Seal EY, Yoo BK. 2002. Development of Model System for Radiation Induced Congenital Malformations by Whole Embryo Culture. Korean J Physi Anthropol 15(4):293-303.
- Park JE, Kee HJ, Cha YS. 2010. Effect of Stevia rebaudiana Bertoni leaf extract on antiobesity in C57BL/6J mice. Korean J Food Sci Technol 42(5):586-592.
- Park JE, Soh JR, Oh SH, Cha YS. 2006. The effects of stevia extract supplementation on lipid metabolism and liver function of rats administered with ethanol. Korean J Hum Ecol 9(1):71-80.
- Park JE. 2007. Effect of Stevia rebaudiana Bertoni extract supplementation on antiobesity and glycemic control. MS thesis. Chonbuk National University of Korea.
- Park SH, Sim KH. 2017. Quality Characteristics and Antioxidant Properties of Omija-pyun (Schisandra chinensis Jelly)added with Stevia Leaf Powder. Korean J Food Nutr 30(4):653-664.
- Park SI, Jung DW. 2005. Effect of green tea powder on the growth inhibition of oral bacteria in yoghurt. Korean J Soc Food Sci Ani Resour 25(4):500-506.
- Pelicano H, Carney D, Huang P. 2004. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. Drug Resist Updates 7(2):97-110.
- Petkau A. 1987. Role of superoxide dismutase in modification of radiation injury. Br J Cancer Suppl 8:87-95.
- Potten CS. 1995. Interleukin-11 protects the clonogenic stem cell in murine small-intestinal crypts from impairment of their reproductive capacity by radiation. In J Cancer 62(3):356-361.

- Rajesh Sharma, Rajesh Yadav, Elangovan Manivannan. 2012, Study of effect of *Stevia rebaudiana bertonii* on oxidative stress in type-2 diabetic rat models. *Biomed Aging Pathol* 2(3):126-131.
- Rauha JP, Vuorela H, Kostiainen R. 2001. Effect of eluent on the ionization efficiency of flavonoids by ion spray, atmospheric pressure chemical ionization, and atmospheric pressure photoionization mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 36(12):1269-1280.
- Reiter RJ. 1995. Oxidative processes and antioxidative defense mechanism in the aging brain. *FASEB J* 9(7):526-533.
- Robert S. 1983. Basic Principles of Radiation Biology. in: Philip Rubin, Clinical Oncology, 5th ed, Rochester Co, Published by the America Cancer Society.
- Roh HK. 2011. Radiological Accident and Acute Radiation Syndrome, *Korean Soc Clini Toxicol* 9(2):39-48.
- Salin ML. 1991. Chloroplast and mitochondrial mechanism for protection against oxygen toxicity. *Free Radic Res Commun* 13(1):851-858.
- Shoshan MS, Tshuva EY. 2016. Effective Inhibition of Cellular ROS Production by MXCXXC-Type Peptides: Potential Therapeutic Applications in Copper-Homeostasis Disorders. *Euro J Chem* 22(27):9077-9081.
- Sim MK, Son SY. 2003. A Study on the Comparison of Psychosocial Adjustment of Children with Cancer between on and off Treatment. *Korean J Child Health Nursing* 9(1):85-95.
- So IC, Yang YK, Lee HY, Lee SH. 2006. The Influence of Vitamin E and Selenium Administration Isokinetic Muscle Strength and Endurance Exercise after Cell Membrane Damage index. *Korea J Sports Sci* 15(3):717-728.
- Srijani G, Anindita B, Avijit P, Sharmila C. 2007. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of *Stevia rebaudiana(bertonii)*

- bertoni, a natural sweetener. *J Agric Food Chem* 55(26):10962-10967.
- Tadhani MB, Patel VH, Subhash R. 2006. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *J Food Compost Anal* 20(3):323-329.
- Thompson JA, Sellers TA, Vachon C, Ahrens M, Sumpmann M, Kersey J, Wlesner GL, Potter JD. 1995. Genetic Services for Familial Cancer Patients: A Survey of National Cancer Institute Cancer Centers. *J Natl Cancer Inst* 87(19):1446-1455.
- Tomita T, Sato N, Arai T, Shiraishi H, Sato M, Takeuchi M, Kamio Y. 1997. Bactericidal activity of a fermented hot-water extract from *Stevia rebaudiana* Bertoni towards enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and other food-borne pathogenic bacteria. *Microbiol Immunol* 41(12):1005-1009.
- Toskulkao C, Chaturat L, Temcharoen P & Glinsukon T. 1997. Acute toxicity of stevioside, a natural sweetener, and its metabolite, steviol, in several animal species. *Drug Chem Toxicol* 20(1):31-44.
- Toyoda K, Matsui H, Shoda T, Uneyama C, Takada K, Takahashi M. 1997. Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats. *Food Chem Toxicol* 35(6):597-603.
- Trush MA, Mimnaugh EG, Gram TE. 1982. Activation of pharmacologic agents to radical intermediates. Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity. *Biochem Pharmacol* 31(21):3335-3346.
- Turker O, Kumanlioglu K, Karapolat I, Dogan I. 2006. Selenium treatment in autoimmune thyroiditis: 9-month followup with variable doses. *J Endocrinol* 190(1):151-156.
- Urquiaga I, Leighton F. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol Res* 33(2):55-64.
- Valko M, Morris H, Mazur M, Raptap P, Bilton RF. 2001. Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: Do the semiquinones of vitamin K

- play a role in the aetiology of colon cancer. *Biochim Biophys Acta* 1527(3):161-166.
- Van-Gaal L, Mertens I, De-Block C. 2006. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* 444(7121):875-880.
- Yamanoto N, Mizue S, Sano K, Takano N, Miyamoto A, Ueno Y, Kudo K, Mochizuki S. 2001. Characterization of food composition and functionality of herbs cultivated in Oita. *Report 36 Oita Japan* 144-149.
- Yang JH, Kim DK, Yun MY, An JK. 2006. Antioxidative activity and therapeutic effect of the hydrogel preparations of *Scutellariae Radix* and *Zingiberis Rhizoma* on dermatitis. *J Korean Pharm Sci* 36(4):253-262.
- Yang YK, Lee KC, Choi SW. 2008. The Effect of Selenium Administration for 3 Weeks on Cardiorespiratory function and Antioxidant Enzyme Activity. *Korea J Sports Sci* 17(1):789-798.
- Yasukawa K, Kitanaka S, Shujiro S. 2002. Inhibitory effect of stevioside on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Biol Pharm Bull* 25(11):1488-1490.
- Yoon JW, Kim HN, Ha TJ, Park SH, Lee SM, Ahn SI, Jhoo JW Kim GY. 2016. Antioxidant Activity of Greek-style Yogurt with Stevia Leaf Extracts. *J Milk Sci Biotechnol* 34(4):263-270.
- Yoon KH. 2002. Characteristics of pound cakes containing stevioside and maltitol. *Korean J Food Nutr* 14(5):391-396.

감사의 글

이 논문이 완성되기까지 도움을 주신 모든 분들께 깊은 감사의 말씀 드립니다.

부족한 제자를 끝까지 기다려주시고 지도해주신 류은순 교수님께 진심으로 감사드립니다. 바쁘신 중에도 귀중한 시간을 내주시고 부족한 논문을 심사해주신 남택정 교수님, 최재수 교수님, 김미경 교수님, 정도영 박사님, 흔쾌히 실험을 허락해주시고 따뜻한 조언을 해주신 민병인 교수님께도 감사와 존경의 말씀드립니다.

늘 따뜻한 배려와 격려를 아끼지 않은 많은 동료와 친구들에게 감사의 마음을 전합니다.

마지막으로 끝없는 사랑을 주시는 부모님과 사랑하는 가족들에게 감사의 마음과 이 논문을 바칩니다. 감사합니다.

2019년 8월
손 은 주