

放射線照射時 胎內白鼠의 口蓋形成期에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究

서울대학교 大學院 齒醫學科 齒科放射線學 專攻

(指導 劉 東 洙 副教授)

金 在 德

一 目 次

- I. 序 言
- II. 研究材料 및 方法
- III. 實驗成績
- IV. 考 按
- V. 結 論
- 參考文獻

1. 序 言

醫學的診斷, 病治療 및 産業分野에서 極히 重要한 位置를 차지하고 있는 放射線은 細胞를 構成하고 있는 分子 또는 原子에 物理學的으로 作用하고, 이어 生産되는 非正常的 代謝產物이 二次的으로 作用하여 生物體는 그 構造가 損傷되고 機能障害 및 平衡攪亂 등이 나타나는 것으로 알려져 있다¹⁾. 이와같이 放射線의 照射가 生體의 口腔硬組織에 미치는 生物學的인 効果에 關하여 많은 研究가 施行되어 왔다. 即 Leist¹⁶⁾가 白鼠頭頸部에 放射線을 局所照射하여 齒牙硬組織의 變化를 觀察한 以來, 村井²⁾는 白鼠의 齒牙에 放射線을 照射한 後, 硬組織變化를 觀察하였다. Burstone과 Levy⁷⁾는 廿日鼠의 顎骨에 對한 X線照射의 效果에 關해 報告했으며, Kalnins¹⁴⁾는 豚의 下顎에 X線照射가 미치는 影響에 關해 報告했고, Adachi⁵⁾, Meyer¹⁷⁾, 朴³⁾, 李⁹⁾ 등은 各各 白鼠 및 廿日鼠 胎兒를 利用하여 齒牙硬組織 및 發育齒胚組織에 미치는 放射線 效果를 報告하였다.

한편 口腔內 硬組織의 하나인 口蓋의 形成異常인 口蓋破裂에 對하여 여러가지 方法에 依해 研究가 施行되어 온 바, Steigner²⁴⁾가 人間의 口蓋破裂의 發現機轉이 遺傳的原因에 基因한다고 報告한 以來, Walker와 Fraser²⁵⁾는 緊張이 造成된 廿日鼠에서 二次口蓋閉鎖에 關한 形態를 報告하였으며, Asling⁸⁾은 母體의 Pteroylglutamic acid 缺乏이 白鼠에서 妊娠後半期에 口蓋破裂을 形成한다고 報告하였고, Callas와 Walker⁶⁾는 廿日鼠에 X線照射後, Chaudhry⁹⁾은 A/HeJ 廿日鼠에 Cortisone 및 Thalidomide를 注射하고, Kitamura¹⁵⁾는 廿日鼠에 X線을 全身照射하여 이들의 影響에 依해 惹起된 口蓋破裂像을 形態學的으로 觀察하였다. Rottke¹⁸⁾은 患者에서 臨床的으로, Spain²²⁾은 廿日鼠에 H³-cortisol을 注射한 後에 口蓋破裂로 誘導된 所見을 觀察하는 등, 많은 外因에 依해 實驗的畸形이 惹起됨을 提示하고 있다. 發育中인 骨이나 齒牙等 硬組織에서는 基質形成細胞의 活動으로 끊임없이 基質이 形成되고, 한편 血液으로 부터 運搬되어진 無機成分이 基質에 沈着하는 바, 發育中인 硬組織에서는 基質形成細胞의 機能을 阻害하는 因子 乃至는 代謝變動等의 影響을 받기 쉽고, 그 結果로 硬組織의 形成障礙가 惹起되기 마련이다.

本實驗에서는 X線을 利用하여 妊娠中인 白鼠의 子宮部에 局所照射하여 放射線照射와 口蓋破裂間의 關係를 白鼠胎兒의 發育過程에서 形態學的으로 觀察한 바 있어 이에 報告하는 바이다.

II. 研究材料 및 方法

白鼠 30마리를 24時間 恒溫, 恒濕이 維持되는 飼育室에서 市販되는 먹이와 물을 供給하여 飼育하였다. 交配는 午後 6時에 雌雄을 個別育室에 같이 넣어 行하였다. 다음날 午前 8時에 腔控을 確認하여 受胎白鼠로 하였다. 胎齡의 基準은 午前 2時를 妊娠 0日로 하였다.

放射線照射는 深部治療裝置 (MAXIMAR250-III)를 使用, Nembutal 麻醉下에서 行하였다. 照射條件은 220 kVp, 10mA, Filter 1/4Cu, FSD 50cm, 照射野 5cm × 5cm × 1/2, 線量 25R/min. 이었다.

骨格에의 異常은 95% alcohol에 固定한 뒤 Alizarin red S 染色으로 透明標本을 製作하고, Glycerin emulsion內에서 檢鏡되었다.

實驗은 X線線量과 照射日, 그리고 口蓋破裂間의 關係를 알고자, 妊娠 7 1/2日, 9 1/2日, 11 1/2日에 各各 150rads, 250rads, 350rads, 500rads를 1回씩 12群에 대한 X線照射를 行하였다. 또한 胎兒의 形態異常이 誘導되는 樣狀을 正確히 把握하기 爲하여는 條件을 附與한 胎兒와 同一한 環境에서 發育하고, 同一發育段階에 있는 胎兒를 對照群으로 比較할 必要가 있다. 勿論 同腹內의 胎兒間에도 發育差는 있지만, 同腹內의 胎兒를 對照하여 行할 수 있는 方法이 있으면 標本의 誤差를 最小限으로 抑制할 수 있고 보다 正確한 實驗을 行할 수 있다.

다행히 嚙齒類인 白鼠의 子宮은 雙角이므로 圖 1에 表示한 바와 같이, 妊娠白鼠를 仰臥의 姿勢로 木板의 照射臺위에 固定하고 左側子宮角部에 該當하는 腹部以

外를 두께 約 16mm의 鉛板으로 遮蔽하고 局所照射하여 照射받은 部位의 反對側(右側)의 胎兒를 對照群으로 삼았다.

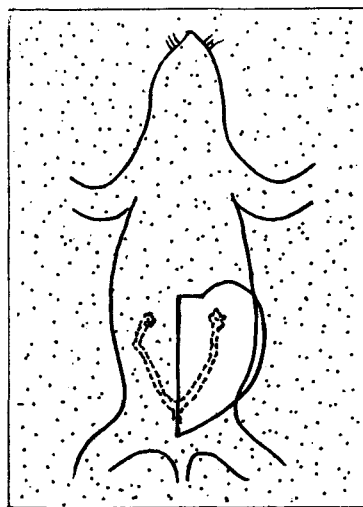


Fig. 1. Schema showing the relation between lead plate and duplex uterus of rat.

妊娠 18 1/2日에 母體를 開腹하여 胎兒를 摘出한 後, 약 231마리의 白鼠胎兒를 肉眼檢索하고, 斷頭하여 頭頸部에 限한 Alizarin red S 染色을 通法에 依해 行하였다.

III. 實驗成績

胎齡 7 1/2日 부터 11 1/2日에 이르는 各妊娠白鼠에 150rads, 250rads, 350rads, 500rads의 12群에 該當

Table. 1. Frequency of incidence of cleft palate and mortality with various irradiations on various days of gestation.

day	dose numbers. (%)	150 rads		250 rads		350 rads		500 rads	
		cont.	irr.	cont.	irr.	cont.	irr.	cont.	irr.
7 1/2 th	survival	13	6	17	9	14	8	11	9
	cleft palate	0	0	0	1	0	2	0	0
	death	1	(25.0) 4	2	(35.7) 5	0	(36.7) 5	2	(19.0) 2
9 1/2 th	survival	7	8	18	12	14	9	7	4
	cleft palate	0	0	0	2	0	0	0	0
	death	2	(20.0) 2	1	(20.0) 3	1	(31.0) 4	3	(55.5) 5
11 1/2 th	survival	12	9	16	9	15	8	6	0
	cleft palate	0	0	0	8	0	3	0	0
	death	1	(10.0) 1	1	(18.2) 2	0	(20.0) 2	0	(10.0) 5

되는 X線照射를 一側子宮角部(左側)에 行한 後, 胎齡 18 1/2日에 開腹하여 胎兒를 採取하고 各 X線照射時期에 다른 口蓋破裂의 出現率과 死亡(吸收)率을 檢討하였다.

Table 1에서 死亡率은 150rads의 X線照射時 妊娠 7 1/2日에 25.0%, 妊娠 9 1/2日에 20.0%, 妊娠 11 1/2日에 10.0%, 250rads 照射時 妊娠 7 1/2日에 35.7%, 妊娠 9 1/2日에 20.0%, 妊娠 11 1/2日에 18.2%, 350 rads 照射時 妊娠 7 1/2日에 36.7%, 妊娠 9 1/2日에 31.0%, 妊娠 11 1/2日에 20.0%, 500rads 照射時 各 各 19.0%, 55.5%, 100%의 成績을 얻었다.

Table 2에서는 口蓋破裂 發生頻度를 보여주는 바, 妊娠 7 1/2日에 250rads 照射時 11.1%, 350rads 照射時 25.0%였고, 妊娠 9 1/2日에 250rads 照射時 16.7%, 350rads 照射時 0%, 妊娠 11 1/2日에 250rads 照射時 88.9%, 350rads 照射時 37.5%의 發生率을 나타내었으나, 各條件의 對照群에서는 全히 口蓋破裂 發生을 보이지 않았다. 한편 Table 1에서 보여주는 바, 150rads 및 500rads 照射時에도 口蓋破裂發生을 나타내지 않았다.

形成된 口蓋破裂의 形態에 있어서는 圖 5에서 보여 주듯이 口蓋突起와 齒槽突起와의 癒合不全이 兩側性으로 나타났으며, 齒槽突起와 口蓋部와의 癒合 또한 兩側性으로 不全되어 있고, 兩側口蓋突起間의 間隔이 對照群의 正常의 兩側口蓋突起間의 間隔(圖 4)보다 벌어져 있었다. 아울러 口蓋突起가 後方構造와 隔離되어 있음도 볼 수 있었다. 以上 口蓋破裂은 주로 水平位 癒合不全의 樣狀을 보여준다. 또한 口蓋突起와 齒槽突起만이 癒合不全된 例도 볼 수 있으며, 口蓋骨自體의 形成不全의 例도 볼 수 있다. 이들 또한 水平位의 癒合不全이라 하였다.

Table 2. Frequency of incidence of cleft palate in shielded fetuses and irradiated fetuses with various doses on various days of gestation.

day	dose %	250 rads	350 rads
7 1/2 th	cont.	0	0
	irr.	11.1	25.0
9 1/2 th	cont.	0	0
	irr.	16.7	0
11 1/2 th	cont.	0	0
	irr.	88.9	37.5

肉眼的 所見으로는 對照群 胎兒에 比해 X線이 照射된 胎兒의 크기가 線量의 增加에 따라 점차 작아졌음을 볼 수 있었다.

IV. 考 按

X線照射의 胎兒에 對한 作用은 母體로 부터 影響은 없고, 胎兒에 直接 作用한다²¹⁾ 생각되고 나서 胎兒에 對한 影響에 關해서 주로 觀察이 行해져 왔다. 특히 異腹間에서는 胎兒의 發育의 差는 매우 크다. 胎兒期의 發育時, 組織器官의 形態形成은 매우 迅速히 進行되므로 큰 發育差異를 나타내는 異腹間의 胎兒를 對照群으로 使用하는 것은 매우 위험하다. 本實驗에서는 同腹內의 白鼠胎兒에서, 白鼠의 子宮이 雙角임을 利用하여 一側子宮角은 鉛板으로 遮蔽하고, 그 反對側子宮角部에 單 X線을 照射하여 比較의 標本間의 誤差를 抑制하고 行한 바, 上記의 結果를 얻었으나 여기서 總括考按하면 다음과 같다.

放射線에 依해 生體가 받는 障害는 여러 因子가 介在되겠으나 一般적으로 分裂增殖機能이 活潑한 組織細胞일수록 感受성이 높아질은 널리 알려진 事實이라 하겠으며, 이는 또한 旺盛한 物質代謝를 營爲하는 細胞에서는 酸素供給率이 增加하게 될 것이므로 組織에 酸素濃度가 높을수록 강한 感受성이 作用될 것으로 본다. 放射線에 依한 生體障害로서 重量減少, 發育遲延, 從屬畸形發現 등이 顯著한은 Wilson²²⁾, Hick^{11), 12)}, Russel과 Russel²¹⁾ 등에 依해서 報告되었다.

Dalrymple 等¹⁹⁾, Rugh²⁰⁾, Wilson²³⁾은 胎生期의 發生에 影響을 주어 畸形을 出現시키는 最低線量으로서는 25R이라고 報告하였고, 現在 畸形成立을 目的으로 하는 研究에서는 150R~300R이 適當線量이라고 알려져 있다. 胎兒의 骨格의 畸形이 惹起되는 때에는 100R乃至 200R 程度의 放射線照射에 依해 可能하다고 한다. 放射線에 依한 畸形發生頻도와 型은 照射時거나 線量에 따라 달라진다고^{11), 12), 13), 19)} 벌써 알려져 있고 哺乳動物에 있어 서의 各種畸形의 臨界期에 對해서는 대단히 詳細히 報告되어 왔다. 그러나 動物系統이나 照射條件에 依해서 效果가 달라질 수도 있기 때문에 畸形誘導實驗을 行하는 境遇 使用動物의 臨界期나 障害樣狀을 詳細히 觀察할 必要가 있다. X線에 依해 誘導되는 畸形의 種類는 多數 報告되어 있으나, 本實驗에서는 주로 口蓋破裂에 對하여 觀察했다. 于先 胎齡別의 出現 傾向을 알기 爲해 胎齡 7 1/2日부터 11 1/2日에 150rads, 250rads, 350

rads, 500rads의 X線照射를 行한 結果, 胎齡 11 1/2日에 가장 높은 出現頻度を 보여주었고, 이어 胎齡 7 1/2日, 9 1/2日의 順序로 나타났다. 照射量에 있어서는 250rads를 照射했을 時 모든 條件에서 口蓋破裂이 發生했고, 이어서 350rads에서 胎齡 7 1/2日 및 11 1/2일에 口蓋破裂을 나타내었다. 반면 150rads 및 500rads의 X線照射時에는 口蓋破裂이 나타나지 않았고, 또한 對照群에서는 어느 群에서도 口蓋破裂이 形成되지 않았다. 여러가지 實驗的畸形이 많은 外因에 依함은 여러 諸家들에 依해 提示되었는바, 本實驗에서 또한 X線이 口蓋破裂 惹起의 外因이 됨을 以上の 結果로 分明히 할 수 있다. X線照射에 依한 胎兒의 障害에 對해서는 線量의 增加에 따라 그 發生도가 增加함이 顯著하다는 것은 Russel과 Russe¹²⁾에 依해서 밝혀져 있으나, 本實驗에서는 線量의 增加에 比例的인 發育障害는 認定할 수 없었다. 口蓋破裂形成은 臨界期中 11 1/2日이 그 頻度の 最高期라고 報告된¹⁹⁾ 바, 本實驗에서 同한 結果를 얻었다.

死亡率에 있어서는 7 1/2일에 가장 높고, 胎齡의 經過가 더불어 減少함을 나타내었다. 이와같은 結果는 從來의 發育이 進行됨에 따라 死亡率이 낮아진다는 報告^{19), 21), 28)}와 一致되고 있다.

口蓋破裂 形態에 對해서 Callas와 Walker⁸⁾는 Cortisone 投與, Vitamin A 過剩投與, Riboflavin 缺乏 및 X線照射에 依해서 發現한 口蓋破裂을 比較하였으나, 이들 사이에는 形態의 變化的 差異가 없고, 同一하게 水平位의 轉位를 나타냈다고 報告하고 있다. 口蓋突起의 轉位遲延에 對해서는 이미 諸家들이 報告한바^{6), 8), 9), 21), 23), 27)} 本 研究에서도 胎齡 11 1/2日의 口蓋破裂 樣狀과 7 1/2日 및 9 1/2日의 口蓋破裂 形態가 다른 外因에 依해 發生된 口蓋破裂 및 胎齡 18 1/2日의 口蓋破裂 樣狀과 類似한 形態를 나타내어 差異가 없었다. 이것은 迅速히 行해지는 口蓋形成過程의 發育段階의 여러 口蓋破裂像을 認定한 所見^{6), 9), 23), 27)}과 더불어 二次 口蓋閉鎖過程이 있을 時點에 口蓋閉鎖機能이 急速히 停止함을 示唆한다.

V. 結 論

著者は 妊娠白鼠의 一側 子宮角部에 妊娠 7 1/2日, 9 1/2日, 11 1/2日에 各各 150rads, 250rads, 350rads, 500rads의 X線을 照射하고, 이로부터 摘出된 白鼠胎兒에서 放射線照射가 口蓋形成期에 미치는 影響을 形

態學的으로 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 250rads 및 350rads의 X線照射時 口蓋破裂形成率이 對照群과 뚜렷한 差異를 나타내어 X線이 口蓋破裂誘導에 外因으로 作用함이 分明하였다.

2. 妊娠 11 1/2日 照射時에 口蓋破裂發生이 가장 많았다.

3. 死亡率은 7 1/2일에 가장 높았고 胎齡의 增加에 따라 減少하였다.

4. X線照射에 依한 口蓋破裂의 形態는 從來의 다른 外因에 依해 發生된 口蓋破裂의 形態와 類似한 所見을 나타내었다.

(本 研究을 끝냄에 있어서 嚴하고 仔詳하게 指導鞭撻하여 주신 安炯珪 主任教授님과 劉東洙 指導教授님 및 朴兌源 教授님께 깊은 感謝를 드리며, 끝까지 協助하여 주신 本大學 放射線科教室員 諸位께 深甚한 謝意를 表합니다.)

參 考 文 獻

- 1) 박태원 : 방사선방어·치과방사선, 3:4, 1975.
- 2) 朴興植 : X線 및 Cobalt-60 照射가 歯牙 및 齒周組織에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究. 大齒協會誌. 12:57, 1974.
- 3) 李基植 : Cobalt-60이 發育齒胚組織에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究. 치과방사선. 6:1, 1976.
- 4) 村井竹雄 : 被照射齒牙의 臨床的 觀察 口腔病理學會誌 17:4, 1943.
- 5) Adachi, T., Murai, T., and Kikuchi: An effect of radiation on the hard tissue. Part III. Effect of radiation on teeth, The Bull. of Tokyo Med. & Dent. Univ. 4:215, 1957.
- 6) Asling et al.: The development of cleft palate resulting from maternal pteroylglutamic acid deficiency during the later half of gestation in rat. Gynec. & Obst. III, 19, 1960.
- 7) Burstone, M.S. and Levy, B.M.: Effect of x-radiation on jaws of mice. J.D. Res. 28:656, 1945.
- 8) Callas, G. and Walker, B.E.: Palate morphogenesis in mouse embryo after x-radiation Anat. Res. 145, 61, 1963.
- 9) Chaudhry et al.: Effects of cortisone and Thialidomide on morphogenesis of secondary palate

- in A/Hej mice. *J. Dent. Res.* 45, 1767, 1966.
- 10) Farris and Griffith: The rat in laboratory investigation Part III *Gross Anatomy*. p.24—50 Hafner 1963
- 11) Hicks, S.P.: Mechanism of radiation anencephaly, anophthalmia, and pituitary anomalies: repair in mammalian embryo. *Arch. Path.* 57: 363—378, 1954.
- 12) Hick, S.P., Brown, B.L., D'Amato, C.J.: Regeneration and malformation in the nervous system, eye, and mesenchyme of the mammalian embryo after radiation injury. *Amer. J. Path* 33: 459—481, 1957.
- 13) Hicks, S.P. and D' Amato, C. J. : Low dose radiation of the developing brain. *Science* 141: 6 1963.
- 14) Kalnins, V.: The effect of x-ray irradiation upon the mandibles of guinea pigs treated with large and small doses of ascorbic acid. *J.D. Res.* 32:2, 1953.
- 15) Kitamura, H.: Epithelial remnants and pearls in the secondary palate in the human abortus: A contribution to the study of the mechanism of cleft palate formation. *Cleft palate J.* 3, 240 1965.
- 16) Leist, M.: *Über Röntgen Schädigung der Zähne*, *Zchr. Stom.*, H.90, 1925
- 17) Meyer, I., Gerald, S., and Tuner, J.: A comparison of the effect of 200k.v. radiation and Cobalt-60 radiation on the jaw and dental structure, *Oral Surg. Oral. Med., Oral Path*, 15: 1078, 1962.
- 18) Rottke et al.: Anatomical-clinoradiographic studies in patient with cleft lip, alveolus and palate. The 3rd. international congress of maxillofacial radiology 7, 1974.
- 19) Dalrymple, G. V. Gaudlen, M. E. Kollmorgen, G. M. Vogel, H. H: *Medical Radiation Biology*; W.B. Saunders Co. 1973.
- 20) Rugh, R.: Exencephalia following x-irradiation of the pre-implantation mammalian embryo: *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 18: 468—481, 1959.
- 21) Russell, L.B. and Russel, W.L.: Analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. *J. cell comp. Physiol.* 43, 103—149, 1954.
- 22) Sicher, H.: *Orban's Oral Histology & Embryology*, ed. 6. C.V. Mosby Co. 1966.
- 23) Spain, K.M.: Cleft palate induction; Quantitative studies of ³H-corticoids in A/Jax mouse tissue of material injection of ³H-cortisol. *J. Dent. Res.* 54, 1069, 1975.
- 24) Steigner, F.: *Neue Beobachtungen und der erblicher Hasenscharte der Mans*, *Z. Mensch. Verergs. und Konst. Lehre.* 23, 427—462. 1936.
- 25) Taketa, T.: Effects of radiation on mouse embryos, *J. Osaka Univ. Dental Society*, 13, 151, 1968
- 26) Walker, B.E. and Fraser, F.C.: Closure of secondary palate in three strain of mice *J. Embryo. Expl. Morph.* 4, 176—189, 1956.
- 27) Wilson, J.G. and Karr, J. W: Effects of irradiation of embryonic development. I. X-ray on the 10th day of gestation in the rat. *Am. J. Ant.* 88, 1—34, 1951.
- 28) Wilson, J. G. and Karr, J.W.: *Ibid.* II. X-ray on the 9th day of gestation in the rat. *Am. J. Anat.* 92:92—187, 1953.

AN EXPERIMENTAL STUDY ON EFFECT OF RADIATION IN
PALATE DEVELOPMENT OF RAT EMBRYO.

Khim Jhai Dhuck D.D.S.

Department of Dental Radiology, Graduate School, Seoul National University

(Directed by Prof. You, Dong Soo D.D.S., Ph. D.)

.....> Abstract <.....

The author observed morphological change in palate development of rat embryo after irradiation of x-ray on the one side of the duplex uterus.

The time-matings occurred between 6 p.m. and 8 a.m. and all females with copulation plugs at 8 a.m. were isolated and properly marked for evidence of copulation. The lower left abdomen of mothers were exposed to x-radiation on the 7 1/2th, 9 1/2th, 11 1/2th day of gestation, respectively 150, 250, 350, 500rads. At 18 1/2th day of post-conception, the pregnant females were dissected and the contents of the two uteri examined.

The translucent sample by Alizarin red S stain were prepared.

The results were as follows;

1. The result that groups irradiated by 250rads and 350rads made marked difference in comparison with the control group suggests the x-ray to be a inducing factor of cleft palate.
 2. At 11 1/2th day of gestation, incidence of cleft palate induced by x-irradiation was highest.
 3. Mortality showed the highest frequency at 7 1/2th day of gestation and tended to decrease in according to increasing of age.
 4. Morphology of cleft palate induced by x-irradiation showed similarity in comparison with those induced by other factors having reported ever.
-



Fig. 2. 妊娠 11 1/2日 250rads 對照群



Fig. 3. 妊娠 11 1/2日 250rads 照射群 口蓋破裂發見圖



Fig. 4. 妊娠 11 1/2日 250rads 對照群 Alizarin red S 染色圖



Fig. 5. 妊娠 11 1/2日 250rads 照射群 口蓋破裂發見之 Alizarin red S 染色圖