

Blocking the Acute Radiostrontium Transfer from Placenta to Fetus by Soluble Chitosan in Mice

Young-Ho Kim^{*}, Hee-Seung Bom^{*†}, Ji-Yeul Kim^{*†}.

^{*}Department of Nuclear Medicine, Chonnam University Hospital,

[†]Chonnam University Research Institute of Medical Science

수용성카이토산에 의한 마우스태반을 통한 태아로의 방사성스트론튬 급성 전이 억제

김영호^{*} · 범희승^{*†} · 김지열^{*†}

^{*}전남대학교병원 핵의학과, [†]전남대학교 의과학연구소

Abstract - It has been reported that chitosan has little genetic toxicity as one of natural and nontoxic chelator and reduces the internal retention of radiostrontium in the mouse. This study is to examine that when water soluble chitosan is provided to the mouse on 17 days of pregnancy before and after radiostrontium contamination, how effectively it can inhibit an acute transfer of radiostrontium to fetus through placenta contaminated.

Water soluble chitosan powder is mixed with general food for 60 days and 10%(Group 1) and 1%(Group 2) are provided respectively, and it is observed that the group with radiostrontium contamination on 17 days of pregnancy can inhibit more effectively the transfer of radiostrontium to fetus through placenta than control group with general food and the groups (Group 3, Group 4) with 10% and 1% of chitosan powder respectively after radiostrontium contamination ($p < 0.01$, Table 1).

It is found that when the pregnant mouse contaminated by radiostrontium on 17 days of pregnancy is prefed by chitosan, the transfer of radiostrontium to fetus through placenta can be inhibited.

Key Words : soluble chitosan, radiostrontium, fetus

요약 - 카이토산은 천연무독성 착화제의 일종으로 유전적 독성이 거의 없으며, 방사성스트론튬의 마우스 체내 축적을 감소시킨다고 알려져 왔다. 본 연구에서는 임신 17일째 마우스에서 방사성스트론튬 오염전. 후에 수용성카이토산을 공급함으로써 오염후 태반을 통한 태아로의 방사성스트론튬 급성 전이를 얼마나 효과적으로 억제할 수 있는 가를 알아보려고 하였다.

수용성카이토산 분말을 60일간 일반식사와 혼합하여 10% (Group 1), 1%(Group 2)를 공급하고 임신

17일째에 방사성스트론튬을 오염시킨 군의 경우 일반식이를 공급한 대조군과 방사성스트론튬 오염후 카이토산 10%, 1%분말을 공급한 군(Group 3, Group 4)에 비해 태반을 통한 태아로의 방사성스트론튬 전이를 효과적으로 억제함을 관찰하였다($p < 0.01$, 표 1).

본 실험을 통해서 임신 17일째에 방사성스트론튬에 오염된 임신마우스의 경우 천연무독성 착화제인 카이토산을 장기간 전처치하였을 경우 태반을 통한 태아로의 방사성스트론튬 전이를 억제할 수 있음을 알 수 있었다.

중심어 : 수용성카이토산, 방사성스트론튬, 태아

서 론

방사성스트론튬은 핵사고시 Cs-137, H-3, I-131 등과 함께 환경중으로 방출되었을 경우 인체 및 환경에 심각한 오염을 초래하는 독성이 아주 강한 방사독소(radiotoxin)중의 하나이다[1~2]. 방사성스트론튬은 구강 오염의 경우 약 6시간 정도가 되면 체내에서 완전한 흡수가 이루어지는 것으로 보고되었다[9]. 방사핵종이 핵사고 등으로 인해 환경으로 방출되어 임신한 모체의 체내에 오염되었을 경우 태반을 잘 통과하여 태아의 골형성 과정이나 배발생 과정에 영향을 미쳐 기형아 출산 및 기타 부작용을 일으키는 등 태아 오염은 필연적인 것으로 보고되어왔다[3~5].

이러한 방사독소 물질이 임신중인 모체에 오염되거나 태반을 통해 태아로 전이되었을 경우 이를 신속하게 효과적으로 제거할 수 있는 약품이 필요하다. 특히, 임신부에서는 모체내의 약물 독성 및 기타 다른 대사과정으로 인한 부작용을 고려해 볼 때, DTPA, CDTA, EDTA등과 같은 화학적 착화제[6]가 아닌 천연무독성 착화제가 필요하다.

카이토산(Chitosan)은 게나 새우 등의 갑각류 외골격에서 추출된 카이틴(Chitin)의 탈아세틸화 반응(deacetylation)을 통해서 얻어진 물질로 유전적 독성이 없는 것으로 알려져 있으며[7~8], 방사성스트론튬에 오염된 마우스의 경우 오염 치료 및 예방에 효과가 있다고 보고되었다[9].

본 연구에서는 마우스 태아로의 영양분 및 기타 물질등의 전이가 급격히 증가[22]하는 임신 17일째를 실험일로 설정하여 방사성스트론튬을 오염시키고 고농도와 저농도 카이토산을 공급함으로써 오염후 태반을 통한 태아로의 방사성스트론튬 급성 전이를 얼마나 효과적으로 억제할 수 있는가를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물로는 삼육축산에서 생산,공급하고 있는 ICR계 8-10주령의 수컷 및 암컷마우스(체중 25-35g)를 교미시켜 얻은 임신마우스(체중 40-50g)를 사용하였으며, 카이토산은 수용액에서 용해되는 수용성 카이토산으로서 분자량 10,000이하의 충무산염(여수) 제품을 구입하여 일반식이와 혼합 10%, 1%의 분말 형태로 공급하여 0.01mg/B.W(g)을 60일간 총 0.6mg/B.W(g)을 먹였다. 방사성스트론튬($^{85}\text{SrCl}_2$, 이하 Sr-85)은 DU PONT사(500 μCi , U.S.A)제품을 구입하여 생리식염수에 희석하여 최종농도가 0.25 $\mu\text{Ci/ml}$ 가 되도록 조정하고, 각 마우스에 0.005 $\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 를 위장관튜브를 사용하여 구강주사 하였다. 실험군은 전체 5개군으로, 1) 10% 카이토산 분말을 60일간 선처리한 후, 교미시켜 임신 17일째에 Sr-85를 구강주사한 군 2) 1% 카이토산 분말을 60일간 선처리한 후, 교미시켜 임신 17일째에 Sr-85를 구강주사한 군 3) 임신 17일째에 Sr-85 주사후, 10% 카이토산 분말을 공급한 군 4) 임신 17일째에 Sr-85를 구강주사후, 1% 카이토산 분말을 공급한 군 5) 임신 17일째에 Sr-85를 구강주사후, 일반식이를 공급한 대조군 등으로 Sr-85 오염후 8시간째 도살시켜 태반, 태반, 태아로 전이된 방사성스트론튬양을 측정하였으며, 각 실험군당 임신마우스 10마리를 1개 실험군으로 설정하였다. 그리고, Sr-85 감마방사능은 감마카운터 (Hewlett-Packard, Cobra 5005, USA)를 이용하여 방사성스트론튬의 감마에너지(515KeV)와 방출비율(98%)를 고려하여 450-600KeV 에너지 범위내에서 CPM으로 측정하였으며, 각 실험군간의 통계학적 차이는 개인용컴퓨터의 SAS통계 프로그램을 사용하여 ANOVA test에 의해서 검정하였다.

결 과

고찰 및 결론

임신 17일째 Sr-85를 오염시키고 일반식이를 공급한 대조군은 태줄에 $0.02 \pm 0.01\%$, 태반 $0.08 \pm 0.03\%$, 태아에 $3.20 \pm 0.79\%$ 가 전이되었다. 10% 카이토산분말을 60일간 식이시킨후, 교미시킨 임신마우스에 Sr-85를 오염시킨 군에서는 태줄 $0.02 \pm 0.01\%$, 태반 $0.04 \pm 0.01\%$, 태아로 $0.66 \pm 0.37\%$ 가 전이되었다. 1% 카이토산분말을 60일간 식이시킨후, 교미시킨 임신마우스에 Sr-85를 오염시킨 군에서는 태줄 $0.02 \pm 0.01\%$, 태반 $0.03 \pm 0.01\%$, 태아로 $1.25 \pm 0.42\%$ 가 전이되었다. 또한, 임신 17일째 Sr-85를 오염시킨후 10% 카이토산분말을 공급한 군에서는 태줄 $0.03 \pm 0.01\%$, 태반 임신 17일째 Sr-85를 오염시키고 일반식이를 공급한 대조군은 태줄에 $0.02 \pm 0.01\%$, 태반 $0.08 \pm 0.10 \pm 0.06\%$, 태아에 $3.74 \pm 0.81\%$ 가 전이되었다. 임신 17일째에 Sr-85를 구강주사하고 1% 카이토산분말을 공급한 군에서는 태줄 $0.03 \pm 0.01\%$, 태반 $0.10 \pm 0.05\%$, 태아에 $3.67 \pm 0.84\%$ 가 전이됨을 관찰하였다(표 1, 그림 1).

방사성스트론튬은 음식물이나 기타 방사피폭에 의해 위장관을 통해 흡수되거나 또는 상처를 통해 혈중으로 들어가 체내의 골조직등에 주로 침착되며, 임신 쥐에 방사성스트론튬을 피하주사하였을 경우 방사성스트론튬의 태아전이는 태아의 골격 발달 형성과 깊은 관련성이 있는 것으로 알려져 왔다[16~18], William[15]은 태반을 통한 태아로의 영양분 전이는 첫번째로 모체를 통해 태아로 영양분이 직접 전이 되는 경우, 두번째 태반의 대사과정을 통한 영양분의 소모를 통해 전달되는 경우, 세번째는 영양분이 환원형으로 전환되면서 대체물질의 형태로 태아로 전이된다고 보고하였다. Comar등[10]은 발생중인 쥐의 태아와 성장중인 쥐에서 ^{90}Sr 과 칼슘간의 상대적인 식이이용에 관해 연구 보고하였으며, Hayakawa등[12]은 ^{14}C 을 이용한 동위원소의 태반 및 모유로의 전이 실험을 통해 ^{14}C -표지된 동위원소가 모체의 혈장보다는 태아로 더 많이 전이가 이루어짐을 관찰하였다. Ruhmann등[13]은 임신한 쥐에 방사성스

Table 1. Blocking the contamination of radiostrontium(^{85}Sr) from mother to fetus by chitosan in mice.

	Control	Group1	Group2	Group3	Group4
umbilical cord	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
placenta	0.08 ± 0.03	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.10 ± 0.06	0.10 ± 0.05
fetus	3.20 ± 0.79	$0.66 \pm 0.37^*$	$1.25 \pm 0.42^*$	3.74 ± 0.81	3.67 ± 0.84

* $P < 0.01$ vs Control

Control. General food was fed after radiostrontium contamination at 17days pregnancy

Group 1. 10% Chitosan powder was given during the 60 days before radiostrontium contamination at 17days pregnancy.

Group 2. 1% Chitosan powder was given during the 60 days before radiostrontium contamination at 17days pregnancy

Group 3. 10% Chitosan powder was given after radiostrontium contamination at 17days pregnancy

Group 4. 1% Chitosan powder was given after radiostrontium contamination at 17days pregnancy

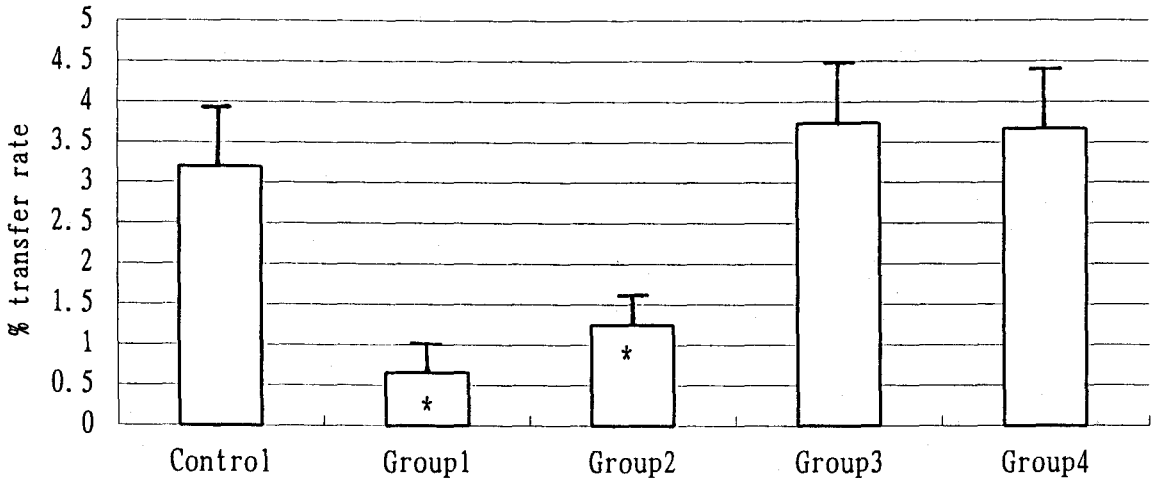


Fig. 1. Blocking the contamination of Sr-85 from mother fetus by chitosan in mice

*p < 0.01 as compared with control

Control. General Food was fed after radiostrontium contamination at 17days pregnancy

Group 1. 10% Chitosan powder was given during the 60days before radiostrontium contamination at 17days pregnancy

Group 2. 1% Chitosan powder was given during the 60days before radiostrontium contamination at 17days pregnancy

Group 3. 10% Chitosan powder was given after radiostrontium contamination at 17days pregnancy

Group 4. 1% Chitosan powder was given after radiostrontium contamination at 17days pregnancy

트론튬을 오염시켰을 때, 임신 15일째 태아의 경우 평균 0.1%, 19일째 2.64%등 임신기간이 길어 질수록 방사성스트론튬의 태아로의 전이량이 증가함을 보고하였다. 또한, Onyskowova등[19]은 임신 마우스와 임신 쥐에 방사성스트론튬을 꼬리 정맥을 통해 주사한 다음, 임신 기간에 따른 태아로의 전이를 관찰했는데, 임신 20일째 마우스 경우가 임신 21일째 Rats의 경우보다 방사성스트론튬의 농도가 훨씬 높게 나옴을 보고하였고, Stather등[14]은 다양한 종류의 방사핵종(radionuclides)을 임신한 모체에 오염시켜 태아로의 전이를 관찰했는데, 방사성스트론튬의 경우 평균 약 5.3%임을 보고하였고, Matsusaka등[13]은 임신 18일째 4.6% 정도가 태아에 전이된다고 보고하였다. 또한, Holmberg등[20]은 복강주사를 통해 임신 19일째 마우스에 방사성스트론튬을 오염시켰을 때 오염 4시간후 평균 5.4% 정도가 태아로 전이됨을 관찰하였고, 초기 임신 혹은 임신전에 방사성스트론튬을 주사했을 경우 모체의 골조직과 방사성스트론튬이 결합하기 때문에 태아로의 극히 적은 양만이 전이된다고 보고하였다.

카이토산(Chitosan)은 게나 새우 등의 갑각류의 껍질에서 추출된 카이틴(Chitin)의 탈아세틸화 반응(deacetylation)을 통해서 얻어진 물질로 유전적 독성이 거의 없으며, 방사성스트론튬에 오염된

마우스의 경우 오염 치료 및 예방에 효과가 있고 [7~9], 또한, 방사성스트론튬에 오염된 모체에서 태어난 F₁세대로의 전이를 억제한다고 보고되었다[21].

본 실험 결과 카이토산을 장기간 미리 선처치한 후 교미시켜 방사성스트론튬에 오염시킨 실험군의 경우 대조군 및 오염 후 카이토산을 단시간 처리한 군에 비해 태반을 통한 태아로의 전이 억제에 상대적으로 좋은 효과가 있음을 나타내었고, 고농도 카이토산 분말을 장기간 처치한 경우가 저농도 카이토산을 처치한 경우보다 효과가 조금 더 높게 나타났지만, 실제로 임상에 사용에는 부적합할 것으로 사료되며 이에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. 위와 같은 결과를 볼 때, 카이토산이 방사성스트론튬과 착화물을 형성하여 체외로 배출시킴으로써 태반을 통한 태아로의 전이 억제에 관여하였다고 생각된다. 하지만, 태반을 통한 카이토산의 정확한 생리적 대사기전 및 서로 다른 임신 일수에 따른 전이억제 효과에 관해서는 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

* 본 연구는 1996년도 보건의료기술연구개발사업 (HMP-96-D-0031)연구비를 지원받아 수행하였습니다.

참고 문헌

1. L. A. Ilyin, A. T. Ivnikov, YU. D. Parfenov and V. P. Stolyarov, "Strontium absorption through damaged and undamaged human skin." *Health Phys.* 29, 75-80(1975).
2. L. V. Kostantinove and A. J. Gonzalez : "The radiological consequences of the chernobyl accident." *Nuclear Safety*, 30(1), 53-69(1989).
3. N. Natdusaka and Y. Nishimura : "Transfer of main radionuclides to fetuses" *日本原子力學會誌*, 24(9), 680-687(1982).
4. A. Auvinen, M. Hakama, H. Arvela, T. Hakulinen, T. Rahola, M. Suomela : "Fallout from chernobyl and incidence of childhood leukaemia in Filland." *BMJ*.309, 151-154(1994).
5. Y. Ujeno : "Effects of Ionizing radiation on embryo and fetus." *放射線科學*, 25(2), 99-101(1983).
6. A. Ortega and M. Gomez, "The removal of strontium from the mouse by chealting agents." *Arch Environ. Contam. Toxicol*, 18, 612-616(1989).
7. K. Arai, T. Kinumaki and T. Fujita, "Toxicity of chitosan." *東海水研報* 337, 89-94(1968).
8. K.. Y. Kim, H. S. Bom, C. S. Oh, H. C. Lee, R. D. Park, H. K. Kim, Y. H. Kim, K. H. Choi, K. M. Chae and J. Y. Kim, "Genetic toxicity of chitosan and EDTA in mice", in the 10th Symposium of the chitin and chitosan in Japan, *The chitin and chitosan Research*, 23(2), 122-123(1996).
9. 범희승, 김지열, 김광운, 양광희, 채기문, 최근희, 송호천 : "카이토산을 이용한 방사성스트론튬 오염의 치료," 「대한방사선방어학회지」, 19(3), 222-228(1994).
10. C. F. Cramer and D. H. Copp : "Progress and rate of absorption of radiostrontium through intestinal tracts of rats." *Proc. Soc. Expl. Biol. Med.* 102, 514-517(1959).
11. C. L. Comar, I. B. Whitney and F. W. Lengemann : "Comparative utilization of dietary Sr^{90} and Calcium by developing rat fetus and growing rat." *Proc. Soc. Expl. Biol. Med.*, 88, 232-236(1955).
12. H. Hayakawa, K. Hayashi, K. Nakafuku, Y. Takano, H. Takagi and Y. Nakajima : "Placental transfer and mammary excretion of [^{14}C]Y-3761 in rats and mice." *Jap. J. Antibiotics*, 48(5), 686-691(1995).
13. A. G. Ruhmann, B. J. Stover, K. R. Brizzee and D. R. Atherton : "Placental ransfer of Strontium in Rats," *Radiation Research*, 20, 484-492(1963).
14. J. W. Stather, J. D. Harrison and G. M. Kendalls : "Radiation doses to the embryo and fetus following intakes of radionuclides by the mother," *Radiation Protection Dosimetry*, 41(2/4), 111-118(1992).
15. W. W. Hay : "Palcental transport of Nutrients to the Fetus," *Home Res*, 42, 215-222(1994).
16. A. Engstrom, R. Bjornerstedt, C. J. Clemedson and A. Nelson : "Bone and Radiostrontium : In The Problem of Internal Radiation Hazards from Radiostrontium," *John Wiley & Sons Inc(New York)*, 9-27(1958).
17. L. A. Ilyin, A. T. Ivannikov, YU. D. Parfenov and V. P. Stolyarov : "Strontium absorption through damaged and undamaged Human Skin," *Health Physics*, 29, 75-80(1975).
18. M. H. Wykoff : "Distribution of Strontium-85 in Conceptuses the Pregnant Rat," *Radiation Research*, 48, 394-401(1971).
19. Z. Onyskowova, M. Josifko : "Strontium-85 in the fetuses of pregnant rats and mice," *Hygiene Epidemiology, Microbiology and Immunology*, 29(1), 1-7(1985).
20. B. O. Holmberg, A. Nelson and E. Wallgren : "The Transfer of Strontium-90 from Mother to Fetus in Mice," *Radiation Research*, 12, 167-172(1960).
21. Y. H. Kim, R. Y. Roh, K. Y. Kim, H. S. Bom, and J. Y. Kim : "Reducing Fetal Contamination of Radiostrontium by Water Soluble Chitosan," *Korean. J. Biol. Sci.*

- 1(2), 337-340(1997).
22. Y. Nishimura, Y. Watanabe, M. Yukawa, M. Wada, and Y. H. Kim : "Placental transfer of ^{14}C -chitosan in rats," in the 11th Symposium of the chitin and chitosan, in Japan, *The chitin and chitosan Research*, 3(2), 166-167(1997).