

임신 ddy Mice에서 착상전기 방사선 조사에 따른 산전 사망 및 외부 기형 발현

가톨릭대학교 의과대학 성모병원 방사선종양학과,
일본 스즈카의료과학기술대학 방사선기술과학과*

노희정 · 최일봉 · 구연화*

Prenatal Deaths and External Malformations Caused by X-Irradiation during the Preimplantation Period of ddy Mice

Hee Jeong Ro M.D., Ihl Bhong Choi M.D. and Yeun Wha Gu Ph.D.*

Department of Radiation Oncology, St. Marys Hospital, Catholic University Medical College, Seoul, Korea and Department of Radiological Technology Science, Suzuka University of Medical science and Technology, Suzuka, Japan*

Purpose : To evaluate the effects of X-irradiation on prenatal deaths, i.e., preimplantation deaths, embryonic deaths, and fetal deaths, and on external malformations in precompacted preimplantation ddy mice.

Materials and Methods : Pregnant mice (n=85), obtained by limiting the mating time to from 6 to 9 A.M., were segregated into 11 groups. The first five groups (n=26) were irradiated with X-ray doses of 0.1, 0.5, 0.75, 1.5, and 3 Gy, respectively, at 24 h post conception (p.c.) of the preimplantation period. The second five (n=27) groups were irradiated at the same X-ray doses, respectively, but at 48 h p.c. of the preimplantation period. The last group (n=32) was the control group. The uterine contents were examined on the 18th day of gestation for prenatal deaths and external malformations.

Results :

- 1) A statistically significant increase in preimplantation deaths with increasing dose was observed in the experimental groups irradiated at 24 h p.c. and in the groups irradiated at 48 h p.c., as compared to the control group. The threshold dose was close to 0.05 Gy and 0.075 Gy for the irradiations at 24 h p.c. and 48 h p.c. respectively.
- 2) A statistically significant increase in embryonic deaths with increasing dose was observed in all irradiation groups, except the group irradiated with a dose of 0.1 Gy at 48 h p.c..
- 3) No fetal deaths were found in any experimental group.
- 4) In the experimental groups irradiated at 24 h p.c., anomalies increased with statistical significance, as compared with the control group: 2 exencephalies, 2 open eyelids, 3 anophthalmias, 2 cleft palates, 2 gastroschisis, 1

이 논문은 1998년 3월 21일 접수하여 1998년 7월 20일 채택되었음.

책임 저자: 최일봉, 서울시 영등포구 여의도동 62 여의도성모병원 치료방사선과

abdominal wall defect, 1 leg defect, and 2 short tail anomalies: the threshold dose for external malformations was close to 0.2 Gy at 24 h p.c.. In the groups irradiated at 48 h p.c., 1 open eyelid and 2 short tail anomalies were observed, but there was no statistical significance in those malformations.

Conclusion : The results of this study reveal that X-irradiation of precompact preimplantation ddy mice causes not only preimplantation deaths and embryonic deaths but also external malformations. In addition, external malformations were observed in our experiments at diagnostic doses, including 0.1 and 0.5 Gy. For this reason, we recommend that irradiation should be avoided during the preimplantation period by applying Rugh's 10-day rule.

Key Words : Irradiation, Preimplantation period, ddy mice, Prenatal death, External malformation

서 론

임신부에 대한 방사선 조사가 태아에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험 동물을 이용한 연구가 많이 실시 되었다. 태아는 방사선에 대해 성인이나 어린이 보다 감수성이 높으며 태아의 발생 시기와 조사량에 따라 발생에 미치는 영향이 다른 것으로 알려져 왔다.¹⁾

방사선이 태아에 미치는 영향은 치사 효과, 기형 발생 및 성장 장애 등으로 구분된다. 이제까지의 연구 결과에 의하면 치사 효과는 주로 착상전기의 방사선 조사에 의해 발생하고 기형 발생은 각 장기의 세포 증식이 활발한 기관 형성기에서 유발되며 성장 장애는 기형과 관계없이 임신 후반부의 방사선 조사 후 주로 초래되는 것으로 알려져 있다.²⁾

발생학적으로 사람의 착상전기는 수정란이 자궁에 착상할 때까지 즉 수정 후 6일까지를 말하며, mouse 에서는 수정부터 4.5일까지가 이 시기에 해당하는데 이 시기는 수정란이 난황을 계속하면서 난관을 따라 자궁으로 이동하는 기간에 해당된다.³⁾ 착상전기는 방사선에 의한 치사 효과가 가장 높은 단계로서 주로 산전 사망이 많이 초래되는 반면에 살아남은 태아는 외부 기형이나 성장 장애없이 정상적으로 살아가게 된다는 "all-or-none" 반응이 나타난다고 알려져 왔다.^{4, 5)} 즉 이 시기는 수정란의 세포수가 적고 각 세포가 분화되지 못한 상태여서 세포가 손상을 입으면 착상을 전후한 시기에 죽게 된다고 알려져 있다. 이와 같이 착상전기의 방사선 효과는 세포가 영향을 받더라도 임신부가 그 영향을 감지하기도 전에 세포의 생명이 끝나버리는 것으로 알려져 있고, 또 이 시기가

임신부 자신이 임신을 자각할 수도 없는 시기여서 방사선 안전 및 방어 관점에서 상대적으로 주목 받지 못한 면이 있다.

그러나 근래들어 착상전기 방사선 조사 후 기형 발생이 초래된다는 연구 보고들이 많아지고 있으며 특히 Heiligenberger mouse 등에서 외부 기형 발생이 유의하게 높다고 보고된 바 있어서 논란의 대상이 되고 있다.^{6, 7)}

그래서 본 연구에서는 이들과는 계통 (strain)이 다른 ddy mice에서 착상전의 중요한 두 시기인 24 h p.c. (hour post conception)와 48 h p.c.에 Müller와 Streffer⁷⁾가 실험에 포함시키지 않았던 진단 영역에서도 이용되는 방사선 선량인 0.1 및 0.5 Gy를 포함하여 0.75, 1.5, 3 Gy를 조사하여 치료 영역 뿐만 아니라 진단 영역의 방사선 선량에 의해서도 산전 사망과 외부 기형이 유발되는지, compaction전 시기의 반응에 시기별 차이가 있는지, 그리고 계통에 따라 차이가 있는지 여부를 알아 보고자 하였다. 실험은 Pampfer와 Streffer,⁶⁾ Müller와 Streffer⁷⁾가 이용한 Molls들⁸⁾의 cell kinetics에 따라 배 발생 시기를 정확히 한 후 실시하였고, 산전 사망과 외부 기형이 발생하는 경우 이러한 반응에 선량 의존성이 있는지 여부와 함께 한계 선량 (threshold dose)을 알아 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험 동물

실험 동물은 생후 9-15주된 ddy mouse를 사용하였다. 구입 후 동물실에 있는 사육장에서 일주일 이상 예비 사육 하였는데 사육실은 오전 6시를 기준으

로 12시간씩 명암 조절을 하였고 사료와 물은 자유 섭취토록 하였다.

발정기에 있는 수컷 한 마리와 암컷 2마리를 오전 6시부터 9시까지 3시간 동안 합사시켜 교미를 하게 한 후 당일 오전 9시에 질전 (vaginal plug)을 관찰하여 임신을 확인했다. 질전이 확인된 mouse는 오전 8시에 수정한 것으로 생각하여 (0 h p.c.) 태아 연령을 환산하였다.⁸⁾

24 h p.c.와 48 h p.c.는 수정란이 각각 2 세포기 및 4-7 세포기로서 착상전기 중 compaction이 일어나기 전 단계에 해당된다.^{8, 9)}

2. 방사선 조사

실험은 방사선을 조사하지 않은 대조군 32마리와 방사선을 조사한 실험군 53마리로 나누어 실시하였다.

방사선 조사는 평균 에너지 6 MeV인 CLINAC 6/100 (Varian, Palo Alto, California, U.S.A.)기종을 이용하여 발생한 방사선을 선원으로부터 mouse까지의 조사거리 1 m, 조사야 20×20 cm, 조사율 1 Gy/min로 mouse끼리 중첩되지 않게 단독 전신 조사 하였다. 방사선은 수정 후 24 h p.c.와 48 h p.c.에

각각 따로 조사하였고, 조사량은 0.1, 0.5, 0.75, 1.5, 3 Gy군으로 나누어 실시하였는데 모체수는 각 군마다 5-7마리씩으로 하였다(Table 1, 2).

대조군과 실험군에 속한 임신 mouse는 다른 사육장에 격리 시킨 후 임신 18일까지 사육하였다.

3. 관찰

임신 18일에 모체를 경추 탈구의 방법으로 희생시킨 후 개복하여 착상률 계산을 위해 황체 수를 확인한 다음 사망 태아와 생존 태아를 구별하였다.

산전 사망은 착상전 사망, 배 사망, 태아 사망으로 분류하였다. 착상전 사망은 수정 후부터 착상 전까지의 사망으로 난소의 황체 수에서 생존 태아, 배 사망, 태아 사망을 합한 착상수를 빼서 구했다.¹⁰⁾ 배 사망은 수정 후 5일부터 10일 사이의 사망으로 착상흔 (implantation site), 태반 잔유물, 흡수 기태 (resorption mole)로 나타나고 태아 사망은 수정 후 11일부터 18일까지의 사망으로 안검 (eyelid)의 식별이 가능한 침연 태아 (macerated fetus)로 확인하였다.^{11, 12)}

생존 태아는 개체 수를 확인하고 37℃ 생리 식염수내에 넣어 해부 현미경으로 외부 기형의 유무를 관찰하였다.

Table 1. Numbers of Preimplantation Deaths, Embryonic Deaths, and Fetal Deaths (%) of the Conceptus of ddy Mice Irradiated at 24 h p.c. in the Preimplantation Period

Dose (Gy)	Pregnant mice	Corpora lutea	Preimplantation deaths	Embryonic deaths	Fetal deaths	Live fetuses
Control	32	615	8 (1.30)	45 (7.32)	1 (0.16)	561 (91.22)
0.1	5	96	32 (33.33)*	10 (10.42)*	0 (0.00)	54 (56.25)*
0.5	5	100	37 (37.00)*	12 (12.00)*	0 (0.00)	51 (51.00)*
0.75	5	107	50 (46.73)*	26 (24.30)*	0 (0.00)	31 (28.97)*
1.5	6	106	46 (43.40)*	25 (23.58)*	0 (0.00)	35 (33.02)*
3	5	97	52 (53.60)*	17 (17.53)*	0 (0.00)	28 (28.87)*

**p*<0.01 compared with control group
h p.c.: hour post conception

Table 2. Numbers of Preimplantation Deaths, Embryonic Deaths, and Fetal Deaths (%) of the Conceptus of ddy Mice Irradiated at 48 h p.c. in the Preimplantation Period

Dose (Gy)	Pregnant mice	Corpora lutea	Preimplantation deaths	Embryonic deaths	Fetal deaths	Live fetuses
Control	32	615	8 (1.30)	45 (7.32)	1 (0.16)	561 (91.22)
0.1	5	92	29 (31.52)*	6 (6.52)	0 (0.00)	57 (61.96)*
0.5	5	102	42 (41.17)*	14 (13.73)*	0 (0.00)	46 (45.10)*
0.75	5	92	30 (32.60)*	18 (19.57)*	0 (0.00)	44 (47.83)*
1.5	5	103	49 (47.57)*	20 (19.42)*	0 (0.00)	34 (33.01)*
3	7	151	66 (43.71)*	53 (35.10)*	0 (0.00)	32 (21.19)*

**p*<0.01 compared with control group
h p.c.: hour post conception

4. 통계 분석

실험 결과 중 산전 사망 및 기형 발생에 대한 통계 처리는 비모수적 검정 방법으로 분석 하였으며 1:1 통계 분석에는 Wilcoxon rank-sum test, 다군 검정에는 Kruskal-Wallis test로 분석하였다. 그리고 산전 사망 및 기형 발생의 한계 선량은 컴퓨터 프로그램인 SAS (statistical analysis system)-Logistic model을 이용하여 로지스틱 회귀 분석 (logistic regression analysis)을 통해 LD₅ 및 ED₅를 구하였다. 통계적인 유의성은 p 값이 0.05 미만일 때로 하였다.

결 과

1. 산전 사망에 미치는 영향

대조군에서는 착상전 사망, 배 사망 및 태아 사망을 합한 산전 사망이 8.78%에서 발생하였고 생존 태아는 91.22%였다 (Table 1, 2).

24 h p.c. 조사군의 경우 산전 사망이 조사량에 따라 43.75-71.13%에서 발생하였고 생존 태아는 28.87-56.25%로서 진단 및 치료 영역의 모든 방사선 조사군에서 대조군에 비해 산전 사망이 증가하였고 생존 태아 수는 감소하였다 ($p < 0.01$) (Table 1).

48 h p.c. 조사군에서도 산전 사망이 38.04-78.81%에서 발생하였으며 생존 태아는 21.19-61.96%로 역시 진단 영역을 포함한 모든 방사선 조사군에서 대

조군에 비해 산전 사망이 유의하게 증가하였고 생존 태아 수는 감소하였다($p < 0.01$) (Table 2).

1) 착상전 사망

착상전 사망은 대조군에서도 8예 (1.30%) 발생하였으나 24 h p.c. 조사군에서는 0.1 Gy군에서 33.33%, 0.5 Gy군에서 37.00%, 0.75 Gy군에서 46.73%, 1.5 Gy군에서 43.40%가 발생하였으며 3 Gy군에서는 53.60%가 발생하여 대조군에 비해 착상전 사망이 현저하게 많이 발생하였고 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다 ($p < 0.01$). 또한 방사선 조사량이 증가함에 따라 착상전 사망도 증가하여 선량 의존성이 있음을 알 수 있었다 (Table 1, Fig. 1).

48 h p.c. 조사군도 착상전 사망이 0.1 Gy군에서 31.52%, 0.5 Gy군에서 41.17%, 0.75 Gy군에서 32.60%, 1.5 Gy군에서 47.57%에서 발생하였으며 3 Gy군에서는 43.71%가 발생하여 대조군에 비해 착상전 사망이 많이 발생하였고 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.01$). 48 h p.c.군의 착상전 사망도 뚜렷한 선량 의존성을 나타냈다 (Table 2, Fig. 2).

24 h p.c. 및 48 h p.c.에서 착상전 사망을 일으키는 한계 선량은 각각 0.05 Gy와 0.075 Gy이상이었다.

2) 배 사망

대조군에서는 착상 후 배 사망이 7.32%에서 발생하였다. 24 h p.c.에서는 0.1 Gy군에서 배 사망이

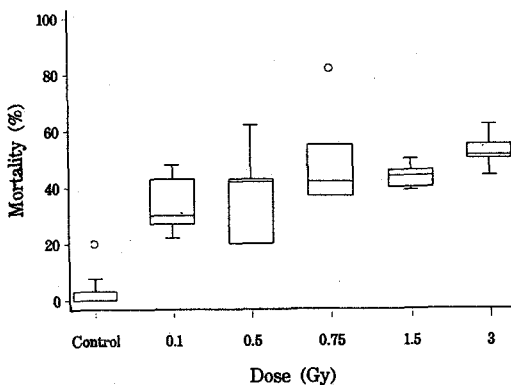


Fig. 1. Preimplantation death of ddy mice irradiated at 24 h p.c. in the preimplantation period. A dose-dependence with statistical significance ($p < 0.01$) was detected among all dose groups by the Kruskal-Wallis test. Results were expressed as box plot of litter effects versus doses.

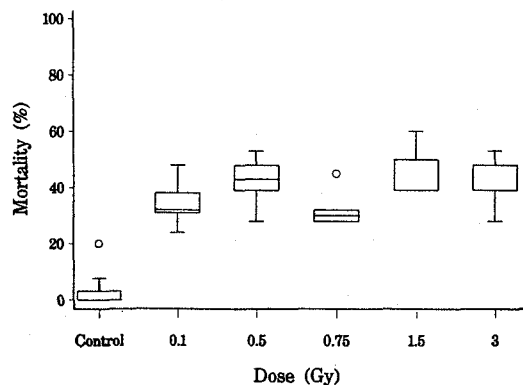


Fig. 2. Preimplantation deaths of ddy mice irradiated at 48 h p.c. in the preimplantation period. A dose-dependence with statistical significance ($p < 0.01$) was detected among all dose groups by the Kruskal-Wallis test. Results were expressed as box plot of litter effects versus doses.

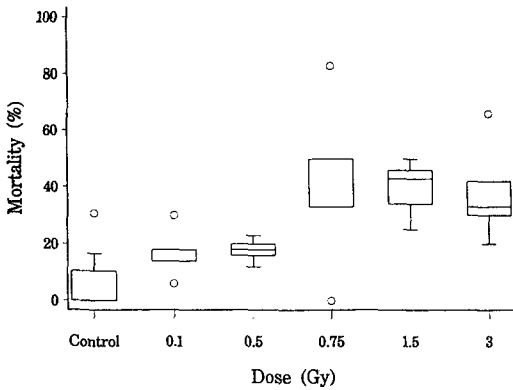


Fig. 3. Embryonic deaths of *ddy* mice irradiated at 24 h p.c. in the preimplantation period. A dose-dependence with statistical significance ($p < 0.01$) was detected among all dose groups by the Kruskal-Wallis test. Results were expressed as box plot of litter effects versus doses.

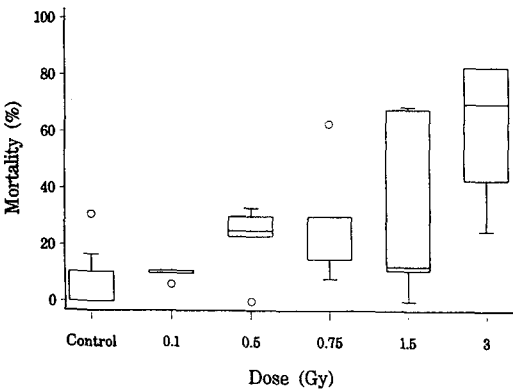


Fig. 4. Embryonic deaths of *ddy* mice irradiated at 48 h p.c. in the preimplantation period. A dose-dependence with statistical significance ($p > 0.01$) was detected among all dose groups by the Kruskal-Wallis test. Results were expressed as box plot of litter effects versus doses.

10.42% 발생하였고 0.5 Gy군에서는 12.00%, 0.75 Gy군에서는 24.30%, 1.5 Gy군에서는 23.58%, 3 Gy군에서는 17.53%에서 발생하여 대조군에 비해 배 사망의 발생 차이가 통계적으로 유의하였고 ($p < 0.01$) 선량 의존성을 나타냈다 (Table 1, Fig. 3).

48 h p.c.에서의 방사선 조사에 의한 배 사망은 0.1 Gy군이 6.52%, 0.5 Gy군이 13.73%, 0.75 Gy군이 19.57%, 1.5 Gy군이 19.42%였으며 3 Gy군에서는 35.10%에서 발생하여, 0.1 Gy군을 제외한 전 조사군에서 대조군에 비해 통계적으로 유의한 배 사망의 증가를 나타냈고 선량 의존성을 명확히 보였다 ($p < 0.01$) (Table 2, Fig. 4).

24 h p.c.와 48 h p.c.에서 배 사망을 유발하는 한계 선량은 각각 0.1 Gy와 0.25 Gy이상이었다.

3) 태아 사망

태아 사망은 대조군에서만 1 예 발생하였고 24 h p.c. 및 48 h p.c.군에서는 발생하지 않았다 (Table 1, 2).

2. 외부 기형 유발에 미치는 영향

대조군에서 확인된 외부 기형은 안검결손 기형 (open eyelid) 1예 뿐이었다. 24 h p.c.의 방사선 조사군 중 0.1 Gy의 저선량에 의해서도 복벽 파열 (gastrochisis)과 안검결손 기형이 각각 1예씩 나타났으며 0.5 Gy에서는 뇌노출 기형 (exencephaly) 1예, 하지 결손 기형 1예, 짧은 꼬리 기형 2예, 0.75 Gy에서는 무안구증 2예와 복벽 파열 1예, 1.5 Gy에서는 구개열 2예와 혈종을 동반한 국소 복벽 결손 1예, 그리고 3 Gy에서는 뇌노출 기형, 안검결손 기형, 무안구증이 각각 1예씩 발생하여, 치료 영역의 방사선 선량 뿐만 아니라 진단 영역의 방사선 선량에 의해서도 외부 기형의 발생이 대조군에 비해 통계적으로 유의한 증가를 보였다 ($p < 0.01$) (Table 3, Fig. 5). 24 h p.c.에서

Table 3. Numbers of External Malformations of the Fetuses of *ddy* Mice Irradiated at 24 h p.c. in the Preimplantation Period

Dose (Gy)	Exen- cephaly	Open eyelid	Anoph- thalmia	Cleft palate	Gastro- schisis	Abdominal defect	Tail anomaly	Leg anomaly	Total (%)	Live fetuses
Control	—	1	—	—	—	—	—	—	1 (0.18)	561
0.1	—	1	—	—	1	—	—	—	2 (3.70)	54
0.5	1	—	—	—	—	—	2	1	4 (7.84)	51
0.75	—	—	2	—	1	—	—	—	3 (9.68)	31
1.5	—	—	—	2	—	1	—	—	3 (8.57)	35
3	1	1	1	—	—	—	—	—	3 (10.71)	28

h p.c.: hour post conception

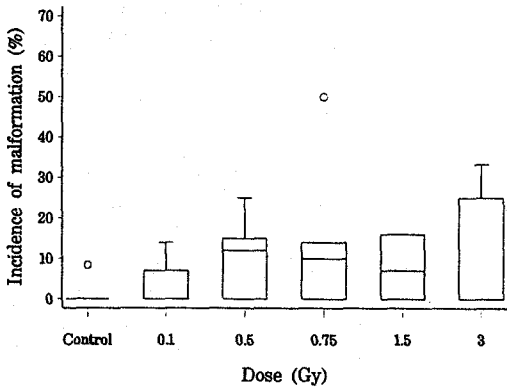


Fig. 5. The incidence of malformations in ddy mice irradiated at 24 h p.c. in the preimplantation period. A dose-dependence with statistical significance ($p < 0.01$) was detected among all dose groups by the Kruskal-Wallis test. Results were expressed as box plot of litter effects versus doses.

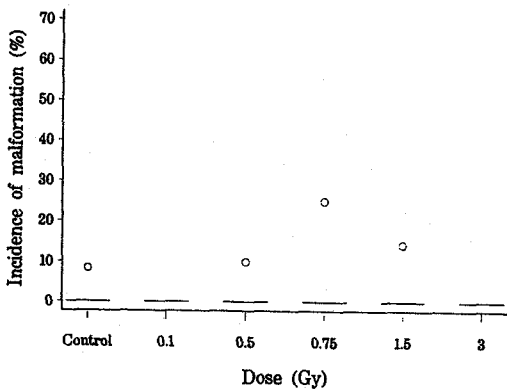


Fig. 6. The incidence of malformations in ddy mice irradiated at 48 h p.c. in the preimplantation period. There were no statistical differences between the control group and each dose group. Results were expressed as box plot of litter effects versus doses.

의 기형 발생률은 선량 의존성을 보였으며 기형을 유발하는 한계 선량은 0.2 Gy 이상임을 알 수 있었다.

48 h p.c. 조사군에서는 0.5 Gy군과 1.5 Gy군에서 각각 한 예의 짧은 꼬리 기형을 보였고 0.75 Gy군에서 안검결손 기형 1예가 나타났으나 외부 기형의 발생 증가가 대조군에 비해 통계적으로 유의하지 않았으며 (Table 4, Fig. 6), 선량 의존성이 없어서 한계 선량은 구할 수 없었다.

고안 및 결론

착상전기는 사람의 경우 수정 후 첫 6일 착상하기 전까지의 시기로 이 시기에 수정란은 DNA 복제 과정을 통해 2 세포기가 되고 그 후 계속 유사분열하여 상실배 (morula), 포배 (blastocyst) 형성 후 자궁에 착상하는 중요한 과정을 거친다.³⁾ 그러나 이 시기는 임신부가 임신을 자각하지 못하는 시기여서 수정란은 일종의 무방비 시기를 거치게 된다. mouse에 있어서 이 시기는 첫 4.5일까지를 말하는데, 24 h p.c.는 DNA 복제 과정 및 첫번째 난할을 거쳐 2 세포를 형성한 시기로 방사선 감수성이 가장 예민한 G2 및 M 단계에 해당하게 된다.⁸⁾ 48 h p.c.는 4 세포로 난할된 후 8 세포 난할이 진행되는 과정 즉 4-7 세포기로서 compaction이 일어나기 직전 단계의 세포이며 이때의 각 세포는 각각 성숙한 한 마리의 mouse를 생산할 수 있는 전능성 세포이다.¹³⁾ 그러나 compaction에 들어가면 전능성은 소실되고 다양한 기능을 갖는 조직으로 발전하게 되므로 착상전 단계에서 이 두 시기는 방사선학적으로나 기형학적으로 중요한 시기라 할 수 있으며⁹⁾ 이제까지 이 시기의 심각한 방사선 피해는 산전 사망이 주로 일어나는 것으로 알려져 있다.^{2, 14)}

본 연구 결과에서도 배 사망이 증가하지 않았던 48 h p.c.의 0.1 Gy 조사군을 제외한 24 h p.c. 및 48 h p.c. 조사군 모두에서 착상전 사망과 배 사망이

Table 4. Numbers of External Malformations of the Fetuses of ddy Mice Irradiated at 48 h p.c. in the Preimplantation Period

Dose (Gy)	Exen- cephalo	Open eyelid	Anoph- thalmia	Cleft palate	Gastro- schisis	Abdominal defect	Tail anomaly	Leg anomaly	Total (%)	Live fetuses
Control	—	1	—	—	—	—	—	—	1 (0.18)	561
0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	0 (0.00)	57
0.5	—	—	—	—	—	—	1	—	1 (2.17)	46
0.75	—	1	—	—	—	—	—	—	1 (2.27)	44
1.5	—	—	—	—	—	—	1	—	1 (2.94)	34
3	—	—	—	—	—	—	—	—	0 (0.00)	32

h p.c.: hour post conception

대조군보다 유의하게 증가하였고 두 시기 모두 방사선에 대해 선량 의존성을 나타냈다. 그러나 24 h p.c.가 48 h p.c.에 비해 한계 선량이 낮아서 2 세포기가 4-7 세포기에 비해 감수성이 높은 시기임을 알 수 있었으며 착상전 사망 및 배 사망에 24 h p.c.와 48 h p.c. 사이에 시기별 차이가 있음을 알 수 있었다. 이는 착상전기 중 초기가 방사선 감수성이 높고 난할이 진행됨에 따라 감수성이 감소한다는 다른 실험 결과와 일치하며,^{7, 15)} 방사선 감수성에 관한 실험관내 mouse 배 세포 실험 결과 4 세포기에서 8 세포기로 난할이 진행함에 따라 감수성이 67% 이상 실제적으로 감소 했다는 연구 결과도 본 연구 결과와 부합하였다.¹⁶⁾

착상전기 방사선 조사에 의한 산전 사망에 대해 여러 가지 기전이 알려져 있으나 그 중 Russell¹⁷⁾의 주장이 가장 널리 인정되고 있는데, 그에 의하면 방사선이 염색체의 손상이나 손실을 초래하고 이로 인해 발생한 염색체 조각이나 유사분열시 이동하지 못한 일부 염색체가 핵농축 소핵 (pyknotic nuclei)을 형성하게 된다. 그 결과 이런 세포들은 상실배 형성 (morulation)이나 포배 형성 (blastulation)시에 세포사를 일으켜 착상전 사망이나 착상 직후 배 사망을 초래하게 된다.^{6, 7)}

본 연구 결과, 착상전 사망 및 배 사망과는 달리 태아 사망은 24 및 48 h p.c.의 모든 방사선 조사군에서 한 예도 발생하지 않았다. 이는 착상전기 방사선 조사 후 착상전 사망이나 착상 직후 사망이 많고 태아 사망 발생은 통계적으로 유의하지 않았다고 보고한 다른 연구 결과^{12, 15)}와 일치하였으며, 그 이유는 착상전기 방사선 조사에 의해 심하게 손상을 입은 세포의 영향이 착상전이나 착상 직후의 시기에 나타나고 태아기까지 지속되지 못하기 때문이라고 알려져 있다.^{6, 12)} 이와는 달리 Glasser¹⁹⁾는 rat에서 태아 사망을 발견하여 이를 태반 기능 부전 즉 방사선이 모체에 작용하여 생긴 간접적인 영향 때문이라고 가설을 세웠으나, Brent와 Bolden²⁰⁾은 rat을 대상으로 실시한 방사선의 간접효과에 관한 실험에서 태아 사망 발생이 방사선에 의한 간접적인 모체 영향 때문이라고 할 만한 증거를 발견할 수 없었다고 주장하였다. 이렇게 보고자 사이에 태아 사망 발생에 관한 주장에 다양한 차이가 있는 것은 실험 방법상의 차이와 생물학적 매개 변수의 차이 때문인 것으로 간주되고 있다.⁶⁾

이제까지 착상전기의 방사선 조사에 의한 영향은 착상전기 수정 후 0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5일 된 mouse에 200 cGy를 조사하여 "all-or-none" 반응

즉 이 시기에 방사선에 노출된 태아는 착상전 사망과 배 사망을 일으키고 생존한 태아는 기형없이 전부 정상이라는 Russell과 Russell^{4, 5)}의 주장이 여러 문헌에서 정설로 인정되어 왔다. 그 후에도 많은 연구가들의 실험 결과 착상전기의 여러 시기에 100-200 cGy를 조사하여 산전 사망만 발생하고 유의할 만한 기형 발생이 없었다고 보고 되었다.^{10, 12, 21-24)} 그러나 Rugh와 Grupp²⁵⁾이 CF₁ mouse를 이용하여 착상전기 중 0.5-4.5일의 여러 시기에 50 cGy와 200 cGy를 조사하여 뇌노출 기형을 보고한 이래, 여러 연구가에 의해 착상전기의 1 h p.c.부터 수정 후 4.5일의 여러 시기에 15-300 cGy를 조사하여 대조군에 비해 유의한 수준으로 외부 기형이 초래되었다는 보고도 많다.^{6, 7, 18, 26-28)} 이런 보고자간의 차이는 실험 동물의 계통 및 유전 성향의 차이^{7, 25)} 착상전기내 조사 시기 및 시기별 세포 분열 단계, 조사율이나 조사량⁶⁾ 그리고 이제까지 밝혀지지 않은 발생학적 기형 반응의 다양성 및 특이성²²⁾에 기인할 것으로 생각된다.

본 연구 결과, 24 h p.c.의 모든 조사군에서 기형 발생이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였고 선량 의존성을 보였다. Pampfer와 Streffer⁶⁾도 mouse의 cell kinetics에 따른 배 발생 과정의 시기를 일치시켜 Heiligenberger mouse를 대상으로 수정 후 1시간 후 즉 1 h p.c.에 0.25, 0.5, 1, 2 Gy를 각각 조사하여, 1, 2 Gy 조사군에서 복벽 파열, 제류 (omphalocele), 무뇌증이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였다고 보고한 바 있는데, 비록 본 연구와는 실험동물의 계통과 방사선 조사 시기 및 선량에 차이가 있지만 이들의 연구 결과도 착상전기 compaction 전 시기에 방사선에 의해 외부 기형이 유발될 수 있음을 보여준다는 점에서 본 연구 결과와 일치함을 알 수 있었다. 그렇지만 이들의 결과와는 달리 본 연구에서는 치료 영역의 선량 뿐만 아니라 진단 영역에서도 이용되는 선량인 0.1 Gy군에서 안검 결손 기형과 복벽 파열, 0.5 Gy군에서 뇌노출 기형, 꼬리 및 다리 기형이 발생하여 대조군에 비해 통계적으로 유의한 증가를 보였으며, 전체적으로 이들의 연구보다 다양한 종류의 기형 반응을 나타냈는데 이는 실험 동물의 계통 차이나 방사선 조사 시기가 다른데서 기인한 결과로 생각된다.

Rugh와 Grupp²⁷⁾은 수정후 24시간이 지난 CF₁ Swiss mouse에 5 cGy를 조사한 후 난관에서 꺼낸 수정란에서 세포핵의 과염색성, 염색체 파쇄 (fragmentation) 등의 세포핵, 세포질 및 세포막의 괴사 소견이 대조군보다 유의하게 증가된 것을 관찰하여,

착상전기 초기에는 저선량의 방사선에 의해서도 방사선 조사로 인한 효과가 나타날 수 있다고 보고하였고 실제로 이들은 15 cGy를 조사하여 뇌노출 기형이 발생하였다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 사용된 0.1 Gy는 이들이 사용한 선량보다 낮은 선량이다. 이런 연구 결과들을 통해 mouse의 여러 계통에서 진단 및 치료 영역의 방사선 조사에 의해 착상전기에도 외부 기형이 유발될 수 있음을 확인할 수 있었다.

착상전기에 방사선을 조사하면 방사선이 세포 핵의 DNA에 작용하여 손상을 일으킨다. 손상된 DNA는 모든 생물의 성장과 분화에 필수적인 단백질 합성 장애를 초래하여 분화 과정에서 정상적인 형태 생성 과정이 방해되어 기형이 발생된다고 한다. 즉 상설배나 포배 형성기를 거치면서 손상을 입은 세포의 손상된 부분에 해당하는 부위에 결손형 혹은 발생 부전 형태의 기형을 초래한다.²⁹⁾ 이때 발생하는 기형은 뇌노출 기형, 무뇌증, 소뇌증 (microcephaly), 안구 및 안검결손 기형, 복벽 파열이나 제류, 발가락 및 꼬리 기형, 왜소증 (stunting) 등의 형태로 나타나는 것으로 알려져 있다.^{6, 18, 25)}

Rugh²⁹⁾는 한 모체내에서도 유전학적인 다양성 때문에 방사선 반응도가 달라 선천적 기형 발생에 대한 한계 선량을 구할 수 없을 것이라고 추정하였으나, Müller²⁸⁾은 1 세포기와 32-64 세포기에 0.25-2 Gy를 조사하여 1 세포기는 한계 선량이 존재하지 않으나 다세포기에서는 한계 선량이 존재하며 32-64 세포기의 한계 선량은 1 Gy이상임을 보고한 바 있다. 본 연구 결과 착상전기 24 h p.c.에서 외부 기형을 유발하는 한계 선량은 0.1 Gy이상임을 알 수 있었다.

Pampfer와 Streffer⁶⁾는 착상전기의 접합체 시기인 1 h p.c.에 0.25-2 Gy의 선량을 조사하여 조사량이 증가함에 따라 기형 발생도 증가하였다고 하여 기형 발생의 선량 의존성을 밝힌 본 연구의 실험 결과와 비슷한 결과를 보였다.

그러나 24 h p.c.와는 달리 48 h p.c.에서는 기형 발생이 대조군에 비해 증가하지 않아서 착상전기 방사선 조사에 의한 외부 기형 유발에 두 시기 간에 시기별 차이가 분명했는데, 이 결과는 실험관내와 생체내에서 수정 후 48시간 후에 36-1940 cGy까지 다양하게 방사선을 조사하였지만 기형이 발생하지 않았다는 보고와 일치하였다.³⁰⁾ 이는 48 h p.c.가 4-7 세포기로 compaction 직전의 시기로서 손상받은 세포가 바로 이어지는 compaction 즉 세포의 표면 성질이나 세포체질 (cytoskeleton)의 기질화 변화 과정^{3, 31)} 혹은 포배 형성시의 형태 변화 과정¹⁶⁾에서 처리되거나, 혹

은 이 시기 배 세포의 특징인 전능성 즉 세포 손상이 발생시 다른 세포가 발생 방향이 변화되어 손상된 세포의 기능을 인계하게 되므로 손상된 세포로 인한 기형 발생이 저지되는 것으로 사료된다.³²⁾ 이런 기형 발생의 시기별 차이를 유발하는 기전을 명확히 이해하기 위하여 종 및 계통을 달리한 연구와 방사선과 관련된 compaction 및 포배 형성 전후 과정에 대한 상세한 세포학적, 기형학적 연구가 필요하리라 생각된다.

최근의 여러 실험과 본 연구 결과 일부 진단 영역의 방사선을 포함한 방사선 조사에 의해서 착상전기 compaction 전 시기에 산전 사망이 증가하고 일부 시기에 외부 기형이 발생한 사실들은, 계통에 따르는 차이와 시기별 차이가 있긴 하지만 착상전기 compaction 전 시기에 진단 및 치료 영역의 방사선 조사에 의해서 산전 사망과 기형이 발생할 수 있음을 시사하는 것이다.

그러나 착상전 시기의 임신부를 대상으로 한 실험은 실시할 수 없으므로 같은 포유류 동물 실험을 통해 방사선 영향을 추정하게 되는데 이런 점에서 mouse는 사람과 발생 과정에 많은 유사점이 있어서 mouse의 발생 단계에 따른 사람의 발생 단계를 시기별로 추정할 수 있는 장점이 있다. 또한 여러 문헌상 설치류 등에서 방사선에 의해 발생하는 기형은 방사선 조사로 인해서 임신부에서 발생한 기형과 유사하며 방사선 감수성은 최소한 사람이 설치류와 비슷하거나 그 이상일 것으로 알려져 있다.^{25, 33)} 그리고 분화가 안된 배 세포나 생식 세포가 염색체 손상을 입거나 유전자에 돌연변이가 발생하여 살아남으면 이런 변화들은 후손들에게 전달된다.²⁹⁾ 이런 점들을 감안하여 임신 mouse에 대한 방사선 조사의 질적인 효과를 사람의 발생에 적용하여 추정하게 되는데,³³⁾ 본 연구 결과를 통해 사람에게 있어서도 착상전기의 진단 및 치료 목적의 방사선 조사가 산전 사망과 외부 기형을 유발할 수 있음을 추정할 수 있다.

Rugh¹⁸⁾은 적절한 의학적인 진단이나 치료의 목적으로 인해 절박한 상황이 아니면 가임기 여성의 골반에 대한 방사선 조사는 생리 시작일 이후 첫 9-10일 이내에만 실시하여 접합체나 착상전기 배 세포에 방사선 조사가 되지 않도록 하라고 주장한 바 있다. 이런 주장은 10일 법칙으로 불리며 1977년 ICRP (International Commission on Radiological Protection)에서 채택하여 방사선 방어에 관한 권고문으로 인용하였으나,³⁴⁾ 그후 1983년 ICRP는 임신 첫 4주는 방사선에 의한 위험성이 적으므로 방사선 조사를 특

별히 제한할 필요는 없다고 언급 하였으며 이 후 현 재까지 특별한 변화없이 인용되고 있다.³⁵⁾

그러나 비록 설치류에 관한 연구 보고자간에 제통 차이, 연구 방법 혹은 발생학적인 차이에 의해 실험 결과에 차이가 있기는 하지만, 본 연구 결과 ddy mouse에서 착상전기의 24 및 48 h p.c. 조사군 중 배 사망이 증가하지 않은 48 h p.c.의 0.1 Gy 조사군을 제외한 모든 방사선 조사군에서 착상전 사망 및 배 사망이 발생하고 또한 24 h p.c.에서는 기형도 발생하는 것을 통해, 착상전기 방사선의 영향은 "all-or-none" 반응만이 아니며 특히 일부 진단 영역의 방사선 조사량에 의해서도 산전 사망 및 외부 기형이 발생할 수 있음을 알 수 있었다. 또한 착상전기는 임신부의 자각 증상이나 월경 유무 여부에 의해서 뿐만 아니라 여러 가지 의학적인 검사들을 통해서도 임신 여부를 알 수 없는 시기이다. 진단 방사선 영역에서도 뇌혈관 조영술시 0.6 Gy, 심혈관 조영술시 0.75 Gy 그리고 CT도 10매 스캔시 기종에 따라 0.14 Gy의 조사량이 가능한 것으로 알려져 있다.¹⁴⁾ 이와 같이 진단 방사선 영역에서도 조사량이 상대적으로 많은 CT 등의 이용이 많이 증가하여 이 시기의 가임 여성도 CT 검사를 받을 경우가 많아진 점들을 고려하면, 착상전기의 방사선 조사를 피할 수 있도록 고안된 Rugh의 10일 법칙은 방사선 방어에 매우 중요하며, ddy mouse를 이용한 본 연구의 실험 결과를 인간에 적용하기 위하여 다른 종별 계통별 실험이 계속 이루어져야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Brent RL. Effect of irradiation on mammalian fetus. Clin. Obs. & Gynec. 1960; 3:928-950
2. Russell LB. X-ray induced developmental abnormalities in the mouse and their use in the analysis of embryological patterns. J Exp Zool 1950; 114: 545-601
3. Hogan H, Beddington R, Costantini F, Lacy E. Manipulating the mouse embryo. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1994:21-27
4. Russell LB, Russell WL. The effects of radiation on the preimplantation stages of the mouse embryo. Anat. Rec. 1950; 108:521
5. Russell LB, Russell WL. Radiation hazards to the embryo and fetus. Radiology 1952; 58:369-377
6. Pamfer S, Streffer C. Prenatal death and malformations after irradiation of mouse zygotes with

- neutrons or x-rays. Teratology 1988; 37:599-607
7. Müller WU, Streffer C. Lethal and teratogenic effects after exposure to x-rays at various times of early murine gestation. Teratology 1990; 42:643-650
8. Molls M, Zamboglou N, Streffer C. A comparison of the cell kinetics of preimplantation mouse embryos from the different mouse strains. Cell Tissue Kinet. 1983; 16:277-283
9. Streffer C, Beuningen V, Molls M, Zamboglou N, Schulz S. Kinetics of cell proliferation in the preimplanted mouse embryo in vivo and in vitro. Cell Tissue. Kinet. 1980; 13:135-143
10. Harvey EB, Chang MC. Effects of radiocobalt irradiation of pregnant hamsters on the development of embryos. J Cellular Comp Physiol 1962; 59: 293-305
11. Bowman P, McLaren A. Viability and growth of mouse embryos after in vitro culture and fusion. J Embryol Exp Morphol 1970; 23:693-704
12. Schlesinger DM, Brent RL. Effects of x-irradiation during preimplantation stage of gestation on cell viability and embryo survival in the mouse. Radiat Res 1978; 75:202-216
13. Kelly SJ. Studies on the development potential of 4- and 8-cell stage mouse blastomeres. J Exp Zool 1977; 200:365-376
14. Hall EJ. Effects of radiation on the embryo and fetus. In : Radiobiology for the radiologist. 4th ed. Philadelphia; J.B. Lippincott company, 1994:363-452
15. Russell LB, Montgomery CS. Radiation sensitivity differences within cell division cycles during mouse cleavage. Int J Radiat Biol 1966; 10:151-164
16. Wiley LM, Raabe OG, Khan R, Straume T. Radiosensitive target in the early mouse embryo exposed to very low doses of ionizing radiation. Mutation Res 1994; 309:83-92
17. Russell LB. Death and chromosome damage from irradiation of preimplantation stages. In: Wolstenholme GEW, Connor MO, editors. Preimplantation stage of development. Ciba Foundation Symposium; 965: Little and Brown, Boston, 1965: 217-245
18. Rugh R, Wohlfromm M, Varma A. Low-dose x-ray effects on the precleavage mammalian zygote. Radiat Res 1969; 37:401-414
19. Glasser SR. Placental dysfunction as the cause of prenatal radiation death: an endocrine oriented hypothesis. In: Carlson W, Gassner FY editors. Effects of ionizing radiations on the reproductive system. Oxford : Pergamon Press, 1964:361-367
20. Brent RL, Bolden BT. Indirect effect of x-irradiation on embryonic development : utilization of

- high doses of maternal irradiation on the first day of gestation. *Radiat Res* 1968; 36:563-570
21. **Ohzu E.** Effects of low-dose x-irradiation on early embryo. *Radiat Res* 1965; 26:107-113
 22. **Brent RL, Bolden BT.** The indirect effect of irradiation on embryonic development. III. The contribution of ovarian irradiation, uterine irradiation, oviduct irradiation, and zygote irradiation to fetal mortality and growth retardation in the rat. *Radiat Res* 1967; 30:759-773
 23. **Friedberg W, Hanneman GD, Faulkner DN, Darden EB, Neal RB.** Prenatal survival of mice irradiated with fission neutrons or 300 kVp x-rays during the pronuclear-zygote stage. *Int J Radiat Biol* 1973; 24: 549-560
 24. **Roux C, Horvath C, Dupuis R.** Effects of pre-implantation low-dose radiation on rat embryos. *Health Phys* 1983; 45:993-999
 25. **Rugh R, Grupp E.** Exencephalia following x-irradiation of the pre-implantation mammalian embryo. *J Neuropathol Exp Neurol* 1959; 18:468-481
 26. **Rugh R, Grupp E.** Fractionated x-irradiation of the mammalian embryo and congenital anomalies. *Am J Roent* 1960; 84:125-144
 27. **Rugh R, Grupp E.** Effect of low level x-irradiation on the fertilized egg of the mammal. *Exp Cell Res* 1961; 25:302-310
 28. **Müller WU, Streffer C, Pampfer S.** The question of threshold doses for radiation damage: malformations induced by radiation exposure of unicellular or multicellular preimplantation stages of the mouse. *Radiat Environ Biophys* 1994; 33:63-68
 29. **Rugh R.** The impact of ionizing radiations on the embryo and fetus. *Am J Roent* 1963; 89:182-190
 30. **Fisher DL, Smithberg M.** In vitro and in vivo x-irradiation of preimplantation mouse embryo. *Teratology* 1972; 7:57-64
 31. **Ziomek CA, Johnson MH.** Cell surface interaction induces polarization of mouse 8-cell blastomeres at compaction. *Cell* 1980; 21:935-942
 32. **Tarkowski AK.** Experimental studies on regulation in the development of isolated blastomeres of mouse eggs. *Acta Theriol* 1959; 3:191-267
 33. **Rugh R.** X-ray-induced teratogenesis in the mouse and its possible significance to man. *Radiology* 1971; 99:433-443
 34. **International Commission on Radiological Protection.** Recommendations of ICRP. ICRP publication 26. Oxford : Pergamon Press, 1977
 35. **International Commission on Radiological Protection.** Statement from the 1983 Washington meeting of the ICRP. ICRP publication 39. Oxford : Pergamon Press, 1984

국문 초록 =

임신 ddy Mice에서 착상전기 방사선 조사에 따른 산전 사망 및 외부 기형 발현

가톨릭대학교 의과대학 성모병원 방사선종양학과,
일본 스즈카의료과학기술대학 방사선기술학과*

노희정 · 최일봉 · 구연화*

목적 : 착상전기의 진단 및 치료 영역의 방사선 조사가 임신 ddy mouse에서 산전 사망과 외부 기형을 유발하는지, compaction전 시기의 반응에 시기별 차이가 있는지 그리고 계통에 따르는 차이가 있는지 여부를 알아 보고자 하였다.

대상 및 방법 : 임신 ddy mouse 대조군 32 마리와 실험군 53 마리를 대상으로 연구를 시행하였으며, 실험군에 대한 방사선 조사는 착상전의 중요한 두 시기인 24 h p.c.와 48 h p.c.에 진단 영역에서도 이용되는 방사선 선량인 0.1, 0.5 Gy를 포함하여 0.75, 1.5, 3 Gy를 조사한 후, 임신 18일에 희생시켜 산전 사망 즉 착상전 사망, 배 사망 및 태아 사망과 외부 기형을 관찰하였다.

결과 : 1) 착상전 사망은 24 h p.c. 및 48 h p.c.에서 대조군에 비해 현저하게 많이 발생하였으며 선량 의존성을 나타냈고, 시기별 한계 선량은 각각 0.05 Gy 및 0.075 Gy이상으로 24 h p.c.가 48 h p.c.보다 방사선에 대한 감수성이 높은 시기임을 알 수 있었다. 2) 배 사망은 48 h p.c.의 0.1 Gy 조사군을 제외한 24 h p.c. 및 48 h p.c.의 모든 조사군에서 대조군에 비해 많이 발생하였고 선량 의존성을 보였으며, 한계 선량은 각각 0.1 Gy 및 0.25 Gy이상으로 24 h p.c.가 48 h p.c.보다 방사선 조사에 의한 배 사망의 감수성이 높았다. 3) 태아 사망은 24 h p.c. 및 48 h p.c.의 실험군 모두에서 발생하지 않았다. 4) 외부 기형은 24 h p.c. 실험군에서 뇌노출 기형 2예, 안검결손 기형 3예, 무안구증 3예, 구개열 2예, 복벽 파열 2예, 꼬리 기형 2예 및 다리 기형 1예, 국소 복벽 결손 1예 등이 발생하였는데, 그 중 진단 영역의 방사선 선량인 0.1 Gy군에서 안검결손 기형 1예, 복벽 파열 1예, 0.5 Gy군에서 뇌노출 기형 1예, 꼬리 기형 2예 및 다리 기형 1예가 발생하여 대조군에 비해 통계적으로 유의한 증가를 나타냈으며 이 시기의 한계 선량은 0.2 Gy이상이었다. 48 h p.c.군에서도 안검결손 기형 1예, 꼬리 기형 2예가 발생하였으나 대조군과 통계적인 유의차가 없었다.

결론 : 이상의 결과를 통해 치료 영역 뿐만 아니라 진단 영역의 방사선 조사로도 착상전기 임신 ddy mouse에서 착상전 사망 및 배 사망이 발생하고 24 h p.c.에서는 기형도 유발되어 이 시기의 방사선 영향이 "all-or-none" 반응만 일어나는 것이 아님을 알 수 있었으며, 24 h p.c.가 48 h p.c.보다 방사선 감수성이 높은 시기라는 사실과 함께 다른 연구 결과들과 비교하여 계통에 따르는 차이가 있음을 알 수 있었다. 그러므로 가임기 여성의 방사선 진단 및 치료시 Rugh의 10일 법칙을 적용하여 착상전기 방사선 조사로 인한 부작용들을 적극적으로 예방하는 것이 매우 중요하다고 생각한다.