

임신중 폭로된 염화메틸수은이 흰쥐태자의 골격형성에 미치는 영향에 대한 연구

이진현[†]

공주대학교 사범대학 환경교육과 및 약물남용연구소

Methylmercuric Chloride(MMC) and Reduction of the Fetal Ossification in Fischer-344 Rats during Organogenesis

Jin Heon Lee[†]

Department of Environmental Education and Abuse Drug Research Center, Kongju National University
(Received 20 March 2001 ; Accepted 10 May 2001)

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the adverse effects of methylmercuric chloride(MMC) against the fetal growth and the ossification rate of fetal pectoral and pelvic girdle, sternbrae, ribs and tail in pregnant Fischer 344 rats administered orally on day 7 of gestation. The resulted obtained are as follows.

The weight and size of fetus were highly reduced by MMC. The reduction of fetal weight and size were 16.2%~24.5%(p<0.01), and 34.1%~48.8%(p<0.01), and that of the litter's weight were 67.0%(p<0.01) and 89.2%(p<0.01) by 20 and 30 mg/kg MMC, respectively.

Ossification centers were never formed in pectoral and pelvic phalanges and sternbrae, and was reduced as much as 70% in tail by 30 mg/kg MMC. Reduction of ossification rate was also very higher in MMC groups than control one. The reduction of ossification rate were 47.5%~58.3%(p<0.01) in metacarpals, and 34.5%~44.2%(p<0.01) in the others(clavicle, scapule, humerus, radius, ulna) of pectoral girdle by 30 mg/kg MMC. And also those were 82.4%~91.2%(p<0.01) in ischium, and 52.4~66.7%(p<0.01) in the others(ilium, femur, tibia, fibula, metatarsals) of pelvic girdle by 30 mg/kg MMC. Ossification of sternbrae was terrible. 5th bone of sternbrae was not ossificated by 20 and 30 mg/kg MMC(p<0.01), and 2nd was also not ossificated by 30 mg/kg MMC(p<0.01). And reduction of ossification rate was 84.8~97.8%(p<0.01) in the others of sternbrae by 30 mg/kg MMC. And then, the reduction of ossification rate was 26.6~49.8%(p<0.01) in fetal ribs by 30 mg/kg MMC, and they were trend to increased as following from center to each edge.

In conclusion, it was observed that fetal weight, size, and ossification of each bone were highly significantly reduced by the increased dosage of MMC.

Keywords : Methylmercuric chloride(MMC), ossification, fetus pectoral, pelvic, sternbrae, ischium, ribs

I. 서 론

수은은 1860년에 처음으로 그 독성이 보고된 이래 (Taylar & Pavy, 1860), 1953년에 일본의 미나마타 병과 1971년에 이라크의 집단 수은중독사건 등 크고 작은 많은 중독사건의 원인으로 알려진 중요한 공해 물질이다(Eddie & An-Robert, 1971; Baker et al., 1973; Clark et al., 1982). 우리나라에서도 1988년

[†]Corresponding author : Department of Environmental Education and Abuse Drug Research Center, Kongju National University.
Tel : 041-850-8814, Fax : 041-850-8864
E-mail : ejhe@kongju.ac.kr

에 형광등을 제조하는 공장의 근로자에게서 수은중독이 발생하였음을 보고하였다(김 등, 1988).

수은폭로로 인하여 야기되는 중요한 또다른 문제 중의 하나는 수은이 태반을 쉽게 통과하기 때문에 태자에 많은 양의 수은이 축적되고, 성염색체 분열을 저해하여 유전물질에 이상을 일으키며, 태자에 영향을 주어 뇌기능 마비, 기형아 출산, 사산 등이 초래된다는 사실이다(Amin-Zaki et al., 1979; Kato, 1974; Kelman et al, 1982; 이, 1994). 더욱이 모체가 수은에 폭로되면 태자는 수은에 대한 "sink" 역할을 하기 때문에 동일한 양의 수은에 폭로되었을 경우, 임신하지 않은 백서의 모체보다 임신한 백서의 모체의 수은

중독이 경미하다고 보고하였다(Curle et al., 1987). 이(1994)는 모체의 뇌와 간장에서보다 태자의 그곳에서 수은농도가 1.5~2.5배 높았다고 보고하였다.

따라서 임신부가 수은에 폭로되었을 경우에 수은 중독 증상이 나타나지 않고 태자에 수은이 축적되어 사산 및 기형아로 출산될 위험성이 있음을 알 수 있다(Fuyuta et al., 1978; Khera, 1973; Pinto-Machado, 1985; Tsuchiya et al., 1984).

물질의 폭로에 의하여 형성되는 최기형 시험에서 태자의 체중변화와 함께 골화 발달상태는 기형판단에 중요한 지표가 된다 따라서 자궁에서 발육중인 태자의 골화형성(ossification)에 대해 관찰은 최기형 시험의 표준지표로 이용되고 있다(Kavlock et al., 1982). 일반적으로 흰쥐는 다른 실험동물보다 골화의 진행이 늦게 일어나며(Baker et al., 1979), 인체와 비교할 때 임신 3개월의 인체 태아골격에서 일어난 골화형성의 정도가 백서의 출생시 그것과 유사한 상태를 나타낸다고 알려져 있다(Strong 1936).

우리 나라에서도 최근에 몇몇 연구자들이 수은중독에 대한 연구결과를 보고하였지만(김, 1990; 주 등, 1991; 이, 1994), 태자의 골격형성에 대한 수은의 영향에 대한 연구는 처음이다. 아직도 우리 나라의 많은 작업장에서는 수은을 많이 사용하고 있으며, 특히 많은 근로자들이 여성으로 구성되어 있어 수은중독에 의한 태자의 골격형성에 대한 본 연구의 결과는 수은중독의 기형학적 연구에 중요한 자료로 제공될 것으로 생각된다. 본 연구는 수은중독에 의한 태자의 골격형성에 대한 영향을 구체적으로 제시하고 있어서 일반적으로는 수은폭로의 위험성을 사업자와 근로자들뿐만 아니라 국민 모두에게 알려 줄 수 있어서 수은의 취급과 관리, 그리고 폭로 예방대책을 구체적으로 설정하여 실천하는 중요한 계기를 마련할 수 있으며, 학술적으로는 수은중독에 대한 태자 독성연구와 최기형성 연구의 활성화에 중요한 근거자료를 제공할 수 있으리라 생각한다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험재료

6~7주된 Fischer-344 흰쥐를 공급받아 실험실에 적응시키면서 9~10주되었을 때 암수 각 1마리씩 교배시켰고(Rao et al., 1990), 투여약제는 염화메틸수은(CH₃HgCl, Junsei chemical Co.,Ltd.,EP)을 생리식염수에 용해해서 사용하였다. 사육실 환경은 온도 20~25°C, 습도 50~60% 범위를 유지하였고, 광

주기는 12시간:12시간의 비율로 인공조명(점등:오전 8시, 소등:오후 8시)을 적용하였으며, 실험기간 동안에 급여된 사료는 실험동물용 펠렛트 사료(제일제당)를 무제한 급여하였고, 음료로는 수도물을 사용하여 자유로이 섭취케 하였다.

2. 실험설계

암수교배는 오전 9~10시 사이에 발정 전기로 확인된 암컷을 선택하여 오후 6~7시에 수컷과 한쌍씩 합방시키고, 다음날 아침에 자성 흰쥐의 질내에서 정자를 발견하면 임신 0일로 간주하여 실험에 이용하였다(Fig. 1 참조). 약제투여는 기관형성 기간인 임신 7일에 경구(Zonde)로 투여하였고, 분만 전날인 임신 20일에 어미를 도살하여 적절한 태자를 분석재료로 사용하였다(Klaassen et al, 1995; Hayes, 1990).

3. 실험군 배정

실험군별 실험동물의 배정은 Table 1과 같이 대조군과 3개의 투여군으로 설정하여 일정한 순서로 정해 놓고, 임신 0일로 판명된 흰쥐를 무작위로 선출하여 순서에 따라 배정하였으며, 각 실험군의 실험동물은 30마리씩 총 120마리를 사용하였다.

4. 골격염색 및 분석

모체에서 적출한 태자를 95% 에틸알코올로 4일 이상 고정하고, 아세톤에 1일 이상 저장하여 지방을 추출한 후, 70% 에틸알코올, 0.005% Alizarin Red S(C.I. 58005, Sigma), 5% 초산으로 만든 염색용액에 넣고 밀봉하여 37°C에서 2~3일 염색을 실시하였

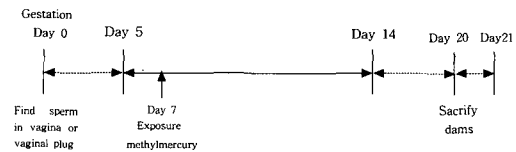


Fig. 1. Schematic diagram depicting the experimental procedure.

Table 1. Experimental design of pregnant rats orally treated with methylmercuric chloride

Grop	No. of rats	Dosage of MMC * (mg/kg body wt.)	Route
Control	30	0.5 ml Saline	oral
MMC 10	30	10	
MMC 20	30	20	
MMC 30	30	30	
Total	120		

* MMC:methylmercuric chloride

다. 염색이 끝나면 물로 씻고, 조직이 투명하게 되어 골격이 보일 때까지 1% 수산화칼륨(KOH)용액에 저장한 후에 1% 수산화칼륨용액으로 만든 20%, 50%, 80% 글리신용액을 차례로 거치면서 조직을 완전히 투명하게 하였으며, 최종적으로 100% 글리신용액에 보관하였다(Inouye, 1976). 이런 과정에 의하여 염색이 완료된 태자는 해부현미경(Zeiss STEM SV8)를 사용하여 상지대(pectoral girdle), 하지대(pelvic girdle), 중추골격(axial skeleton) 및 늑골(ribs)에 있는 총 127개 골격을 대상으로 골화중심(ossification center)를 계수하고, 골화형성(ossification) 길이를 측정하였다.

5. 통계적 분석

실험에 의하여 수집된 자료는 SAS(Statistical Analysis System)통계프로그램을 이용하여 그룹간 차이를 GLM(General Linear Model)분석을 실시하였고, 유의한 수준($p < 0.01$)으로 나타난 Table에 대해서는 Turkey test를 실시하여 실험군별 차이의 유의성($p < 0.05$, $p < 0.01$)을 관찰하였다.

III. 실험결과

1. 태자의 체중과 크기

임신 7일된 흰쥐에게 유기수은(MMC)을 경구로

투여하였을 때, 각 투여군에서 관찰된 태자의 체중과 크기는 Table 2와 같다(Photo A 참조).

유기수은을 10 mg/kg 투여하였을 때에 태자의 체중, 체장(體長) 그리고 두장(頭長)이 9.6~11.8% 감소하였지만, 동상군의 무게는 32.3%로 감소하여 대조군과 유의한 차이가 나타났고($p < 0.05$), 유기수은을 20 mg/kg 투여하였을 때에는 태자의 체중, 체장(體長) 그리고 두장(頭長)이 16.2~24.5% 감소하고, 동상군의 무게가 67.0%로 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이가 나타났다($p < 0.01$). 또한 유기수은을 30 mg/kg 투여하였을 때는 그 정도가 더욱 심해져서 태자의 체중, 체장(體長) 그리고 두장(頭長)이 34.1~48.8% 감소하였고, 동상군의 무게가 89.2%로 크게 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이가 나타났다($p < 0.01$). 그리고 동상군을 제외한 그 외 항목들에서 암컷의 감소량이 수컷에 비해 다소 심하게 나타났다.

2. 태자의 골화중심수

임신 7일된 흰쥐에게 유기수은(MMC)을 경구로 투여하였을 때, 태자들의 상지대 지골(pectoral girdle phalanges), 하지대 좌골(pelvic girdle ischium), 하지대 지골(pelvic girdle phalanges), 흉골분절(sternebrae) 그리고 꼬리(tail)에서 관찰된 골화중심수의 변화는 Table 3과 같다.

Table 2. The weights and sizes of fetuses in rats administered orally by methylmercury on day 7 of gestation

	Control	MMC10	MMC20	MMC30	Mean \pm S.D.
Fetal weight(g)					
Male	3.78 \pm 0.52	3.46 \pm 0.12	2.86 \pm 0.54*	2.14 \pm 0.24**	
Female	3.72 \pm 0.18	3.21 \pm 0.16	2.80 \pm 0.45*	1.75 \pm 0.16**	
Average	3.75 \pm 0.32	3.31 \pm 0.19	2.84 \pm 0.35*	1.92 \pm 0.28**	
Litter weight(g)					
Male	20.7 \pm 1.33	13.8 \pm 0.74*	6.9 \pm 0.74**	2.1 \pm 0.21**	
Female	19.9 \pm 0.87	13.8 \pm 0.33*	6.5 \pm 0.61**	2.3 \pm 0.27**	
Total	40.6 \pm 1.07	27.5 \pm 0.74*	13.4 \pm 1.02**	4.4 \pm 0.44**	
Body length(mm)					
Male	32.5 \pm 1.00	29.7 \pm 1.42	25.4 \pm 1.02*	21.2 \pm 0.76*	
Female	32.1 \pm 1.32	28.6 \pm 1.26	25.0 \pm 1.28*	19.7 \pm 0.85*	
Average	32.3 \pm 1.65	29.2 \pm 1.69	25.3 \pm 1.19*	20.5 \pm 1.10*	
Head Length(mm)					
Male	14.8 \pm 0.35	13.3 \pm 0.36	12.3 \pm 0.39	10.1 \pm 0.28*	
Female	14.3 \pm 0.34	12.7 \pm 0.49	12.1 \pm 0.22	9.1 \pm 0.28*	
Average	14.6 \pm 0.46	13.0 \pm 0.53	12.2 \pm 0.41	9.6 \pm 0.58*	

MMC10, MMC20, and MMC30 ; 10, 20 and 30 mg/kg methylmercuric chloride

* ; Significantly different from control at $p < 0.05$

** ; Significantly different from control at $p < 0.01$

Table 3. Number of fetal ossification centers in rats treated orally with methylmercury on day 7 of gestation

Bone	Unit : Number, Mean \pm S.D			
	Control	MMC10	MMC20	MMC30
Pectoral Phalanges	16.0 \pm 0.23	14.1 \pm 0.30*	8.2 \pm 0.92*	0.0 \pm 0.00**
Ischium	4.0 \pm 0.00	4.0 \pm 0.00	4.0 \pm 0.00	1.8 \pm 0.45*
Pelvic phalanges	11.8 \pm 0.82	10.2 \pm 0.40	4.4 \pm 0.21*	0.0 \pm 0.00**
Sternebrae	5.9 \pm 0.45	5.5 \pm 0.52	4.2 \pm 0.42*	0.0 \pm 0.00**
Tail	10.0 \pm 0.41	7.5 \pm 0.65*	7.5 \pm 0.65*	3.0 \pm 1.22**

MMC10, MMC20, and MMC30 ; 10, 20 and 30 mg/kg methylmercuric chloride

* ; Significantly different from control at $p < 0.05$

** ; Significantly different from control at $p < 0.01$

유기수은을 10 mg/kg 투여하였을 때 태자 골화중심수가 6.8~13.6% 감소하였다. 유기수은을 20 mg/kg 투여하였을 때는 상지대 지골과 하지대 지골의 골화중심수가 48.8%와 62.7% 감소하고, 흉골분절과 꼬리의 골화중심수가 28.8%와 25.0% 감소하여 대조군과 유의한 차이가 나타났다($p < 0.05$). 유기수은을 30 mg/kg 투여하였을 때는 그 정도가 매우 심각하여 상지대 지골, 하지대 지골, 흉골분절의 골화중심수가 100% 형성되지 않았고, 꼬리의 골화중심수도 70% 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이가 나타났다($p < 0.01$). 그러나 하지대 좌골의 골화중심수는 30 mg/kg 유기수은을 투여한 실험군에서 55% 감소하여 대조군과 유의한 차이가 나타났지만($p < 0.05$), 그 외의 투여군에서는 대조군과 비슷하게 나타났다.

3. 태자 상지대의 골격형성

임신 7일된 흰쥐에게 유기수은을 경구로 투여했을 때, 태자의 상지대를 구성하는 쇄골(clavicle), 견갑골(scapule), 상완골(humerus), 요골(radius), 척골(ulna), 완전골(metacarpals) 등의 골격형성이 Figure 2와 같이 관찰되었다. 대조군에서 쇄골은 6.87 \pm 0.198 mm, 견갑골은 5.95 \pm 0.174 mm, 상완골은 6.65 \pm 0.208 mm, 요골은 7.20 \pm 0.182 mm, 척

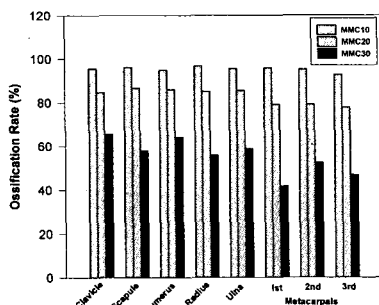


Fig. 2. Ossification rate of fetal pectoral girdle in rats treated orally with methylmercury on day 7 of gestation. MMC10, MMC20 and MMC30 : 10, 20 and 30 mg/kg methylmercuric chloride.

골은 5.59 \pm 0.143 mm 그리고 완전골은 0.72~1.01 mm이었다.

유기수은을 10 mg/kg body wt. 투여하였을 때 상지대의 모든 골격이 3.3~7.4% 감소하였지만, 유기수은을 20 mg/kg 투여하였을 때는 완전골은 20.8~22.2%, 그 외 상지대는 13.4~15.3% 감소하여 대조군과 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 또한 유기수은을 30 mg/kg 투여하였을 때는 더욱 정도가 심해져서 완전골은 47.5~58.3%, 그 외 상지대의 쇄골, 상완골, 요골, 척골 등은 34.5~44.2% 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$).

4. 태자 하지대의 골격형성

임신 7일된 흰쥐에게 유기수은을 경구로 투여했을 때, 태자의 하지대를 구성하는 장골(ilium), 좌골(ischium), 대퇴골(femur), 경골(tibia), 배골(fibula), 부전골(metatarsals) 등의 골격형성이 Figure 3과 같이 관찰되었다. 대조군에서 장골은 3.96 \pm 0.241 mm, 좌골은 2.05~1.70 mm, 대퇴골은 5.27 \pm 0.124 mm, 경골은 5.78 \pm 0.204 mm, 배골은 5.67 \pm 0.218 mm, 부전골은 0.91~1.05 mm이었다.

유기수은을 10 mg/kg body wt. 투여하였을 때 좌골이 10.6~14.1% 감소하였고, 그 외 하지대는

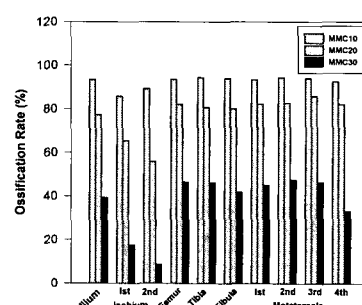


Fig. 3. Ossification rate of fetal pelvic girdle in rats treated orally with methylmercury on day 7 of gestation. MMC10, MMC20 and MMC30 : 10, 20 and 30 mg/kg methylmercuric chloride.

5.5~7.3% 감소하였다. 유기수은을 20 mg/kg 투여하였을 때는 좌골이 34.6~44.1% 감소하였고, 그 외 하지대는 13.9~22.7% 감소하여 대조군과 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 또한 유기수은을 30 mg/kg 투여하였을 때는 그 정도가 더욱 심해져서 좌골은 82.4~91.2% 감소하였고, 그 외 하지대의 장골, 대퇴골, 경골, 배골, 부전골 등은 52.4~66.7% 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$).

5. 태자 흉골분절의 골격형성

임신 7일된 흰쥐에게 유기수은을 경구로 투여했을 때, 태자의 흉골분절의 골격형성이 Fig. 4와 같이 관찰되었다. 대조군에서 흉골분절의 1번째 골격은 0.99 ± 0.119 mm, 2번째 골격은 0.55 ± 0.131 mm, 3번째 골격은 0.56 ± 0.093 mm, 4번째 골격은 0.45 ± 0.107 mm, 5번째 골격은 0.17 ± 0.109 mm, 6번째 골격은 0.95 ± 0.220 mm이었다.

유기수은을 10 mg/kg body wt. 투여하였을 때 1번째 골격이 15.2% 감소하였으나, 2번째, 3번째, 4번째, 6번째 골격이 22.1~30.9% 감소하고, 5번째 골격

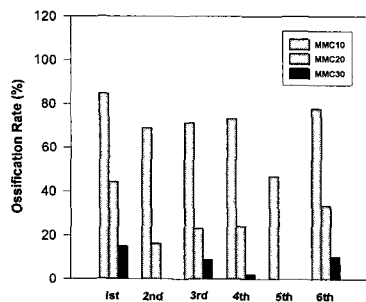


Fig. 4. Ossification rate of fetal sternbrae in rats treated orally with methylmercury on day 7 of gestation. MMC10, MMC20 and MMC30 : 10, 20 and 30 mg/kg methylmercuric chloride.

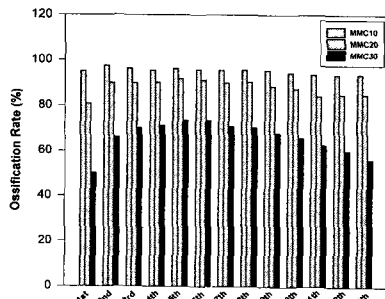


Fig. 5. Ossification rate of fetal ribs in rats treated orally with methylmercury on day 7 of gestation. MMC10, MMC20 and MMC30 : 10, 20 and 30 mg/kg methylmercuric chloride.

이 52.9% 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$). 유기수은을 20 mg/kg 투여하였을 때는 그 정도가 더욱 심해져서 5번째 골격이 100% 관찰되지 않았고, 나머지 흉골분절이 55.6~83.6% 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$). 또한 유기수은을 30 mg/kg 투여하였을 때는 그 정도가 극도로 심해져서 2번째와 5번째가 100% 관찰되지 않았고, 나머지 흉골분절도 84.8~97.8% 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$).

6. 늑골의 골격형성

임신 7일된 흰쥐에게 유기수은을 경구로 투여했을 때, 태자의 늑골형성이 Fig. 5와 같이 관찰되었다. 대조군에서 1번째 늑골 2.56 ± 0.144 mm, 2번째 늑골은 4.89 ± 0.254 mm, 3번째 늑골은 6.70 ± 0.175 mm, 4번째 늑골은 8.70 ± 0.219 mm, 5번째 늑골은 9.95 ± 0.132 mm, 6번째 늑골은 10.58 ± 0.189 mm, 7번째 늑골은 10.89 ± 0.131 mm, 8번째 늑골은 10.74 ± 0.191 mm, 9번째 늑골은 10.33 ± 0.152 mm, 10번째 늑골은 9.64 ± 0.195 mm, 11번째 늑골은 8.48 ± 0.131 mm, 12번째 늑골은 6.61 ± 0.210 mm, 13번째 늑골은 4.45 ± 0.205 mm이었다.

유기수은을 10 mg/kg body wt. 투여하였을 때 늑골형성이 3.6~6.5% 감소하였지만, 유기수은을 20 mg/kg 투여하였을 때는 늑골형성이 8.2~19.1% 감소하여 대조군과 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 또한 유기수은을 30 mg/kg 투여하였을 때는 그 정도가 다소 심해져서 늑골형성이 26.6~49.8% 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이를 나타내었고($p < 0.01$), 중심에서 양쪽 끝으로 갈수록 늑골형성의 감소량이 점점 증가하는 경향을 보였다.

IV. 고 찰

태자의 체중은 이상이 있을 경우에 현저히 감소되기 때문에(Jensh & Brent, 1967), 태자의 체중과 크기의 변화는 임신 중에 폭로된 약물에 의한 발생한 기형의 한 형태로 간주한다(Hayes, 1990; Klaassen et al., 1995). Fuyuta 등(1978)은 염화메틸수은 7.5, 6.0, 5.0 mg/kg/day를 C57BL 생쥐와 Wistar 백서에게 투여했을 때, 암·수 태자의 평균체중이 크게 감소했다고 보고했고, ICR 생쥐에게 임신 10일에 염화메틸수은 25, 20, 15 mg/kg를 투여했을 때에도 태자의 체중이 대조군에 비해 현저히 감소했다고 보고했다.

본 실험에서도 염화메틸수는 10, 20, 30 mg/kg를 투여하였을 때 태자의 체중, 체장(體長) 그리고 두장(頭長)이 9.6~11.8%, 16.2~24.5%, 34.1~48.8% 감소하여 수은 투여량이 증가함에 따라 태자의 체중과 크기가 매우 크게 감소하였으며, 대조군과 매우 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$). 태자체중감소의 원인이 유사분열율(mitotic growth rate)의 저해 때문이라는 연구결과(Curle et al., 1987; Fuyuta et al., 1978)를 고려해볼 때 염화메틸수는의 투여로 인하여 태자의 체중뿐만 아니라 체장, 두장도 크게 영향을 받았다고 생각된다. 특히 본 연구에서 동산군의 무게는 그 정도가 심해서 염화메틸수는의 투여량을 증가함에 따라 32.3%, 67.0%, 89.2%로 매우 크게 감소하여 대조군과 매우 큰 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$). 이렇게 동산군의 무게가 더 심하게 감소된 것은 염화메틸수는의 투여에 의하여 태자 생존수가 크게 감소하였기 때문이라고 생각된다.

최기형 실험에서 태자의 체중과 함께 골화형성 상태가 기형판단의 중요한 지표가 되기 때문에 자궁내 발육중인 태자의 골격형성(ossification)을 관찰하는 것은 최기형 실험의 표준지표로 이용되고 있다(Kavlock et al., 1982).

임신중의 백서에게 염화메틸수는을 태아의 기관형성기간에 투여했을 때 나타나는 최기형성은 구개열(cleft palate), 부종과 뇌기형, 수신증(hydronephrosis) 등의 장기기형과, 골화지연, 골격손실, 골격기형 등과 같은 태자 성장지연이라고 보고되고 있다(Curle et al., 1987; Fuyuta et al., 1978; Su & Okita, 1976). Fuyuta 등(1978)은 Wistar백서와 C57BL생쥐에게 임신중 기관형성기간에 염화메틸수는을 7.5, 6.0, 5.0 mg/kg 투여했을 때 구개열, 부종과 뇌기형, 수신증, 척추골격 기형, 갈비뼈 기형 등이 관찰되었고, 임신 10일된 ICR생쥐에게 염화메틸수는을 25, 20, 15 mg/kg 투여했을 때에는 구개열 발생율이 100%, 58.6%, 28.0%로 관찰되었으며, 수신증 발생율은 25와 20 mg/kg의 메틸수는을 투여했을 때 각각 23.8%와 18.5%로 관찰되었다고 보고하였다. Curle 등(1987)도 임신 9일된 ICR Swiss/Webster생쥐에게 염화메틸수는을 20, 15, 10 mg/kg투여했을 때 구개열의 발생율이 100%, 69.5%, 22.0%로 관찰되었다고 보고하였다.

그러나 Harris 등(1972)은 임신중인 햄스터에 염화메틸수는을 투여하였지만 구개열이 관찰되지 않았다고 보고하였고, Fuyuta 등(1978)도 임신중인 Wistar 백서에 염화메틸수는을 투여하였으나 구개열

이 관찰되지 않았다고 보고하였다. 이렇게 구개열 발생이 차이가 나는 이유에 대하여 Su & Okita(1976)은 실험동물의 종간(種間)차이 때문이라고 설명하였고, Fuyuta 등(1978)은 염화메틸수는에 대해 실험동물마다 감수성(susceptibility)이 다르기 때문이라고 설명하였다. 또한 Fuyuta 등(1978)에 의하면 구개열의 발생은 구개 발생과정 자체에 의해서 뿐만 아니라 혀, 턱, 두 개 등과 같은 주변기관들의 발달과 연관되어 있어서 여러 가지 요인이 작용하여 형성된다고 설명하였으며, 염화메틸수는에 의하여 관찰되는 공통적인 최기형의 형태는 골화지연, 골격기형, 체중감소 등이며, 이것을 종합하여 태아성장지연이라고 설명하였다.

본 실험중 Fischer-344 백서에 대하여 임신 7일에 염화메틸수는을 투여하였을 때 구개열이 관찰되지 않았으나 태자의 골화중심수가 크게 감소하였고, 상지대·하지대·흉골분절·꼬리 등의 골격이 크게 감소한 것으로 관찰되었다.

본 연구결과에서 태자의 골화중심수는 유기수는 20 mg/kg를 투여하였을 때 상지대 지골과 하지대 지골의 골화중심수가 48.8%와 62.7% 감소하였고, 흉골분절과 꼬리의 골화중심수가 28.8%와 25.0% 감소하였으며($p < 0.05$), 유기수는 30 mg/kg를 투여하였을 때는 그 정도가 매우 심각하여 상지대 지골, 하지대 지골, 흉골분절의 골화중심수가 100% 형성되지 않았고, 꼬리의 골화중심수도 70% 감소하였다($p < 0.01$). 또한 골격의 형성길어도 염화메틸수는의 투여량에 비례하여 감소량이 크게 증가하였다. 염화메틸수는 30 mg/kg를 투여했을 때 상지대의 완전골은 47.5~58.3%, 쇄골·상완골·요골·척골 등은 34.5~44.2% 감소하였으며($p < 0.01$), 하지대에서는 좌골이 염화메틸수는 20와 30 mg/kg를 투여했을 때 34.6~44.1%와 82.4~91.2% 만큼 감소하였다($p < 0.01$). 염화메틸수는의 폭포에 의한 흉골분절의 골격형성은 매우 심각하여 5번째 골격은 유기수는을 20 mg/kg 투여하였을 때 100% 관찰되지 않았고, 유기수는 30 mg/kg를 투여하였을 때는 2번째와 5번째가 100% 관찰되지 않았으며, 나머지 흉골분절도 84.8~97.8% 감소하여 대조군과 매우 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.01$). 유기수는을 30 mg/kg 투여하였을 때 늑골형성도 26.6~49.8% 감소하였고($p < 0.01$), 중심에서 양쪽 끝으로 갈수록 늑골형성의 감소량이 점점 증가하는 경향을 보였다. 따라서 모체에 투여된 염화메틸수는의 투여량이 증가함에 따라 태자의 골격형성이 크게 지연되는 경향이 뚜렷하였

고, 흉골분절에서 그 정도가 가장 심하게 나타났으며, 그 다음은 하지대 지골, 상지대 지골, 늑골 등의 순서로 나타났다.

골격형성의 과정을 보면, 간충세포(mesenchyme)의 집합체인 전골격아체(preskeletal blastema)가 적당한 자극을 받아 연골내골화(endochondral ossification)에 의해서는 치환골(replacement bone)이 형성되고, 막내골화(intramembranous ossification)에 의해서는 막골(membrane bone)이 형성되는 것으로 구분할 수 있다(Kent, 1987). 연골내막화와 막내골화를 지연시키는 요인은 칼슘 자체의 부족 혹은 칼슘을 흡수하여 골격화하는데 필요한 비타민 A, C, D 부족 등 영양물질결핍 요인과 parathyroid hormone, calcitonin, pituitary growth hormone 등 골격형성과 관련된 호르몬에 이상이 발생한 경우로 설명할 수 있다(Ross & Reith, 1985). 본 연구결과에서는 폭로된 염화메틸수은이 어떤 기전에 의하여 골격형성을 방해하였는지 알 수는 없지만, 염화메틸수은이 이들 요인들과 연관되어 골격형성지연이 발생되었다고 생각된다. 또한 흉골분절의 골격형성이 다른 골격에 비하여 염화메틸수은에 더 크게 영향을 받아 형성이 지연된 것은 흉골이 내막골화에 의해서 골격이 형성되는데 반해 다른 골격은 연골내골화에 의해서 형성되기 때문에(Ross & Reith, 1985) 염화메틸수은에 의한 방해기전의 차이에서 기인된 것이라고 생각되며, 이에 대해서는 더 많은 연구가 요망된다.

V. 결 론

본 연구는 임신 7일된 Fischer 백서에게 염화메틸수은을 경구로 투여하고, 임신 20일에 태자를 적출하여 시료로 사용하였다. 태자의 골격을 염색한 후에 상지대, 하지대, 흉골분절, 늑골 등의 골격형성을 관찰하고 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

태자의 무게와 크기 그리고 동산군의 무게가 염화메틸수은의 투여량을 증가함에 따라 크게 감소되었다. 20, 30 mg/kg 염화메틸수은을 투여함에 의하여 태자 무게와 크기의 감소량이 16.2~24.5% ($p < 0.01$) 과 34.1~48.8% ($p < 0.01$)로 나타났고, 동산군 무게의 감소량이 89.2% ($p < 0.01$)와 89.2% ($p < 0.01$)로 나타났다.

골화중심수는 30 mg/kg 염화메틸수은을 투여했을 때 상지대 지골, 하지대 지골, 그리고 흉골분절에서 전혀 형성되지 않았고, 꼬리에서는 감소량이 70%로 나타났다($p < 0.01$). 골격형성도 염화메틸수은의 투여

량을 증가함에 따라 크게 감소되었다. 30 mg/kg 염화메틸수은을 투여함으로 인하여 상지대 완전골 형성의 감소량이 47.5~58.3%이었고 ($p < 0.01$), 그 외의 상지대 골격(쇄골·상완골·요골·척골 등)형성의 감소량은 34.5~44.2%이었다 ($p < 0.01$). 30 mg/kg 염화메틸수은을 투여함으로 인하여 하지대 골격형성의 감소량은 좌골이 82.4~91.2% ($p < 0.01$)이었고, 그 외의 골격(장골·대퇴골·경골·배골·부전골 등)에서는 52.4~66.7%로 나타났다 ($p < 0.01$).

흉골분절 골격형성의 감소량은 매우 심각하게 나타났다. 5번째 골격의 형성은 유기수은을 20 및 30 mg/kg 투여하였을 때 전혀 관찰되지 않았고, 30 mg/kg 염화메틸수은을 투여하였을 때 2번째 골격형성이 전혀 관찰되지 않았으며, 나머지 흉골분절 형성의 감소량도 84.8~97.8%로 나타났다 ($p < 0.01$). 늑골형성의 감소량은 30 mg/kg 염화메틸수은을 투여했을 때 26.6~49.8%로 나타났고 ($p < 0.01$), 중심에서 양쪽 끝으로 갈수록 늑골형성의 감소량이 점점 증가하는 경향을 보였다.

결론적으로 염화메틸수은량의 투여량이 증가함에 따라 태자의 체중, 체장(體長), 두장(頭長) 그리고 동산군의 무게가 크게 감소하였고, 골화중심수와 상지대·하지대·흉골분절·늑골 등의 골격형성도 염화메틸수은의 투여량에 비례하여 매우 크게 감소하였음이 관찰되었다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 공주대학교 자체학술연구비의 지원에 의해 이루어진 것임.

참 고 문 헌

Amin-Zaki, L., Majeed, M.A., Elhassani, L.S., Clarkson, T.W., Greenwood, M.R. and Doherty, R.A. ; Prenatal methylmercury poisoning : Clinical observation over five years, Am J. Dis. Child. 133 : 172-177, 1979.

Baker, F., Kamulji, S.F. and Doherty, R.A. ; Methylmercury poisoning in Iraq, Science, 81 : 230-241, 1973.

Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H.O. ; Selected normative data, Appendix I in The laboratory rats, Academic Press, New York, 1, 412-413, 1979.

Clark, J.A., Kasselberg, A.G., Glick, A.D. and

- Oneil, J.A. ; Mercury poisoning from mebromin therapy of omphalocele, *Clin. Ped.*, 21 : 445-447, 1982.
- Curle, D.C., Ray, M. and Pers명, T.V.N. ; In vivo evaluation of teratogenesis and cytogenetic changes following methylmercuric chloride treatment, *The Anatomical Record*, 219, 289-295., 1987.
- Eddie, W. and An-Robert, C.S. ; The fatal dose of methylmercury in man, *J. A. M.*, 216 : 1347, 1971.
- Fuyuta, M., Fujimoto, T. and Hirata, S. ; Embryotoxic effects of methylmercuric chloride administered to mice and rats during organogenesis, *Teratology*, 18, 353-366, 1978.
- Hayes, A.W. ; Principles and methods of toxicology, 3rd eds., Raven Press, New York, 1990.
- Harris, S., Wilson, J. and Printz, R. ; Embryotoxicity of methylmercuric chloride in golden hamsters, *Teratology*, 6, 139, 1972.
- Jensh, R.P. and Brent, R.L. ; An analysis of the growth retarding effects of Try pan Blue in Albino rats, *Anat. Rec.*, 159, 453, 1967.
- Kato, H. ; Induction of sister chromatide exchanges by chemical mutagens and its possible relevance to DNA repair, *Exptl. Cell Res.*, 85, 239-247, 1974.
- Kavlock, R.J., Chernoff, N., Roger, E., White, H., Carver, B., Gray, J. and Robinson, K. ; An analysis fetotoxicity using biochemical endpoints of organ differentiation, *Teratology*, 26, 183, 1982.
- Kelman, B.J. Walter, B.K. and Sasser, L.B. ; Fetal distribution of mercury following introduction of methylmercury into porcine maternal circulation, *J. Toxi. Envi. Health*, 10, 191-200, 1982.
- Kent, G.C. ; Comparative anatomy of the vertebrates, 6th eds., Times Mirror/Mosby, 168-205, 1987.
- Khera, K ; Teratologic effects of methylmercury in the cat : Note on the use of this species as a model for teratogenicity studies, *Teratology*, 8, 293, 1973.
- Klaassen, C.D., Amdur, M.O. and Doull, J. ; Casarett and Doull's Toxicology, the basic science of poisons, 5th, Interantional Edition, 1995.
- Inouye, M. ; Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S., *Chng. Anatom.*, 16, 171-173, 1976.
- Pinto-Machado, J. ; External examination of limb positions in near-term mouse fetuses : An experimental study and review of the literature published in teratology, *Teratology*, 31, 413-423, 1985.
- Rao, G.N. and Boorman, G.A. ; Histology of the Fischer rats, in Boorman, G.A., Eustis, S.L. and Elwell, M.R., *Pathology of the Fischer rat reference and Atlas*, Academic Press. Inc. New York, 5-8, 1990.
- Ross, M.H. and Reith, E.J. ; Histology, A text and Atlas, 315-321, 1985.
- Strong, R.M. ; The order, time and rates of ossification of the albino rat skeleton, *Am. J. Anat.*, 36, 313, 1936.
- Su. M.Q. and Okita, G.T. ; Embryocidal and teratogenic effects of methylmercury in mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 38, 207-216, 1976.
- Taylor, A.S. and Pavy, F.W. ; On poisoning by white precipitate with the physiological effects of this substance on animals, *Guy. Hosp.*, 6 : 505-510, 1860.
- Tsuchiya, M., Mitani, K., Kodama, K. and Nakata, T. ; Placental transfer of heavy metals in normal pregant Japaneses women, *Arch. Envi. Health*, 39, 11-17, 1984.
- 김상수 ; 납, 수은 및 카드뮴이 백서좌골신경계에 미치는 영향에 관한 형태학적 연구, 원광대학교 대학원 의학과 박사학위논문, 1990.
- 김병성, 홍윤철, 임현술, 김지용, 이진권, 허봉렬, 최찬주 ; 만성 수은 중독 4례, *가정의학*, 9(6) : 27-32, 1988.
- 주왕기, 김형춘, 송계용 ; 유기수은 유발 뇌손상에 미치는 셀레늄의 작용기전 및 전자현미경적 관찰, *한국독성학회*, 7(1), 73-81, 1991.
- 이진현 ; 염화메틸수은에 폭로된 임신 흰쥐에서 모체와 태자의 장기에 축적된 수은농도의 비교, *한국환경위생학회*, 20(3), 39-48, 1994.

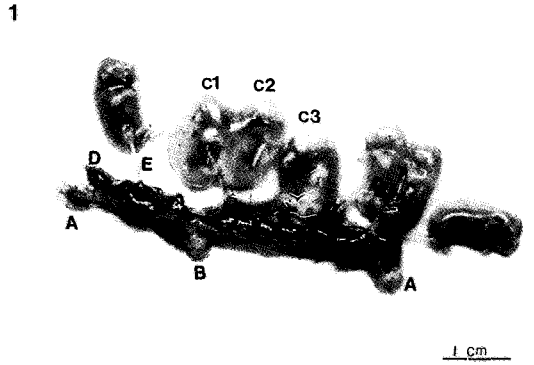


Photo 1. Rat gravid uterus at term, cut open with fetuses attached, which was orally exposed by 30 mg/kg methylmercuric chloride on day 7 of gestation ; (A) ovarian end ; (B) cervical end ; (C) fetuses, C1~C3 of them were severely effected and retarded ; (D) placenta ; (E) umbilical cord.

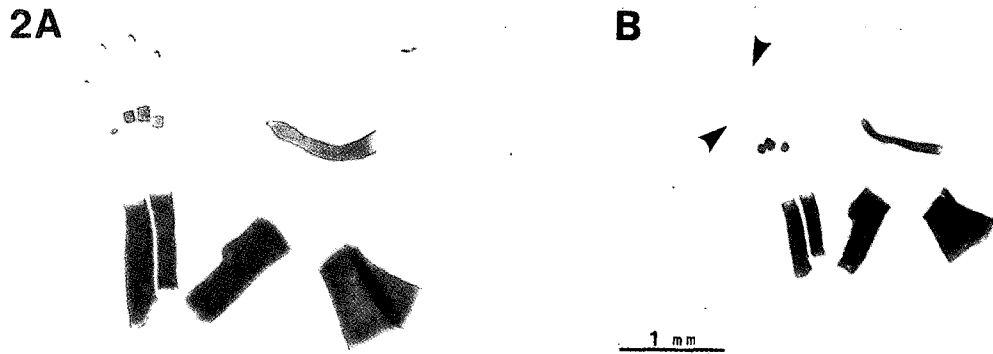


Photo 2. Fetal pectoral girdle, dissecting microrographs stained with Alizarin Red S. ; (A) control ; (B) 30 mg/kg methylmercuric chloride exposure. Showing the absence of proximal and distance phalanges(arrow head), and retardation of their size.

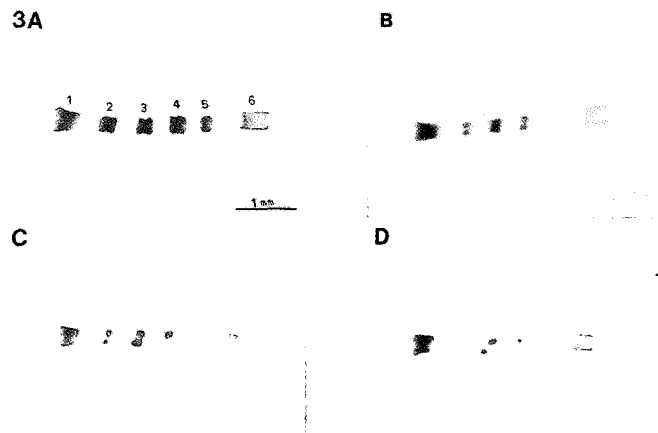


Photo 3. Fetal sternbrae, dissecting micrographs stained with Alizarin Red S. ; (A) control ; (B) 20 mg/kg methylmercuric chloride exposure. Showing the absence of 5th bone ; (C) 30 mg/kg methylmercuric chloride. Showing the absence of 5th bone and the severe retardation of the others ; (D) 30 methylmercuric chloride exposure. Showing the absence of 2nd and 5th bone, and the nearly all absence of 3rd and 4th bone.