



방사선의 발생독성 검색을 위한 단기 최기형성 시험법의 확립

김종춘¹ · 김성호¹ · 신동호¹ · 신진영¹ · 김세라¹ · 이해준¹ · 박승춘² · 조성기³ · 이윤실⁴

¹전남대학교 수의과대학, ²경북대학교 수의과대학, ³한국원자력연구소, ⁴한국원자력병원

Establishment of Short-Term Teratogenicity Study for Detecting Developmental Toxicity Induced by Gamma Radiation

Jong-Choon Kim¹, Sung-Ho Kim¹, Dong-Ho Shin¹, Jin-Young Shin¹, Se-Ra Kim¹, Hae-June Lee¹,
Seung-Chun Park², Sung-Kee Jo³ and Yun-Sil Lee⁴

¹College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757

²College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701

³Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353

⁴Laboratory of Radiation Effect, Korea Cancer Center Hospital, Seoul 139-706, Korea

Received February 17, 2004; Accepted April 26, 2004

ABSTRACT. The present study was carried out to establish a short-term teratogenicity study for detecting developmental toxic potential induced by gamma radiation in ICR mice. Pregnant mice were exposed at dose levels of 0, 0.5, 1, 2, or 4 Gy on gestational day 8.5. All dams were subjected to caesarean section on gestational day 10.5 and their embryos were examined for growth, differentiation, and morphological abnormalities. An increase in the number of resorption was found at 4 Gy in a dose-dependent manner. Dose-dependent decreases in the developmental score of yolk sac circulation and olfactory system at above 1 Gy, in the number of somite pairs and developmental score of allantois, optic system, and maxillary process at above 2 Gy, and in the all growth and developmental parameters examined at 4 Gy were found. Various types of morphological abnormalities were seen at dose levels of 0.5 Gy or greater. Characteristic malformations induced by gamma radiation were abnormal axial rotation, hematoma, craniofacial hypoplasia, open neuropore, shortened prosencephalon, kinked somites, irregular somites, swelling, hydropericardium, absent branchial bar, and absent limb bud. Morphological alterations such as hematoma, craniofacial hypoplasia, open neuropore, and kinked somites were noted even in the lowest dose (0.5 Gy). These results indicated that the short-term teratogenicity study established in this study can be a useful tool for not only detecting the developmental toxic potential induced by gamma radiation, but also screening radio-protective agents in ICR mice.

Keywords: Gamma-radiation, Embryotoxicity, Teratogenicity, Short-term screening, Mice.

서 론

최근 방사선 및 방사성동위원소는 비파괴 검사, 계측 등 공업분야와 식품 보존 등 식품분야, 환경 및 생명공학 분야 등으로 이용이 급속도로 확대되는 추세이다. 또한 암, 심장질환, 뇌혈관질환 등 각종 난치성질환의 진단 및 치

료에도 광범위하게 이용되고 있으며, 양전자방출 단층촬영술, 방사성의약품, 양성자 가속기 등 원자력의 의학적 이용도 지속적으로 확대되고 있다. 이와 같이 원자력의 이용은 공업, 농업, 생명공학, 환경, 과학기술 진흥과 삶의 질 향상 및 국가경제 발전에 크게 기여하고 있다. 반면 원자력의 이용증가로 인체위해성과 환경오염 등의 가능성도 점차 증가하고 있으며, 이로 인해 방사선의 위해성에 대한 국민적 관심이 크게 증가하고 있다. 따라서 방사선에 대한 신뢰성있는 독성평가를 통해 안전성을 확보하고, 이를 통한 방사선의 부작용을 예방하는 것이 가장 효과적인

Correspondence to: Jong-Choon Kim, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
E-mail: toxkim@chonnam.ac.kr

안전대책으로 사료된다.

방사선피폭은 세포분열의 억제와 염색체의 손상을 유발하기 때문에 빠르게 분열하는 세포나 이와 관련된 기관에서 주로 부작용이 발생한다. 급성부작용은 주로 골수나 위장관계, 점막, 모낭, 성선 등에서 주로 관찰되며, 만성부작용은 유전독성, 최기형성, 발암성 등이 잘 알려져 있다. 방사선피폭에 의한 최기형성은 오래 전부터 연구되어 왔고(Jacobson, 1965), 특히 주요 기관형성기와 초기 태아 발생기 동안의 노출에 의한 기형유발과 안전성 문제는 현재까지도 많은 연구의 대상이 되고 있다(Kim *et al.*, 2001; Kusman and Ota, 2002). 배아와 태아는 세포증식율이 매우 높기 때문에 방사선이나 세포증식을 억제하는 화학물질에 대해 어린이나 성인에 비해 훨씬 더 민감하게 반응하게 된다(Aolad *et al.*, 2000; Uma Devi and Hossain, 2001; Kim *et al.*, 2004). 방사선의 자궁 내 노출에 의한 배·태아의 영향으로서는 출생 전·후 사망과 발육지연, 형태학적 기형, 기능학적 이상 등이 보고되어 있다(BEIR Report III, 1980; Miller, 1990). 배아독성과 최기형성을 평가하기 위한 표준화된 배·태아 발생독성 시험법은 개체수준에서 독성을 직접 확인할 수 있는 좋은 방법이지만 많은 동물과 인력, 경비 및 시간이 소요되는 단점이 있다(정과 김, 2000; Kim *et al.*, 2004). 따라서 방사선이나 화학물질 등 외래물질의 노출에 의해 유발되는 발생독성을 보다 효과적이고 단기간에 검색할 수 있는 단기 최기형성시험법 개발의 필요성이 대두되게 되었다.

본 연구는 착상 초기의 마우스 배아를 이용하여 방사선의 발생독성 잠재력을 단기간에 검색할 수 있는 단기 최기형성 시험법을 확립하고자 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 사육환경

실험동물은 바이오 제노믹스로부터 4주령의 특정병원체 부재 마우스를 구입하여 사용하였다. 80마리의 암컷과 40마리의 수컷동물을 입수하여 1주간의 순화 및 검역을 한 다음, 성숙이 완료된 10주령의 동물을 시험에 공시하였다. 실험동물은 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 인공조명 12시간(08시부터 20시)으로 유지된 실험실에 사육하였으며, 건강한 동물만 선발하여 시험에 공시하였다. 교배를 위해 암수 2 : 1로 동일사육상자에 동거시킨 다음 익일 오전 질구에서 질전(vaginal plug)이 확인된 암컷을 임신 0일령으로 산정하였다. 임신동물은 스테인레스제 망덮개가 있는 투명한 폴리카보네이트 사육상자에 개체별로 사육하였으며, 물(상수도수)과 사료(삼양, 원주)는 자유 섭

취시켰다. 본 실험에 사용된 모든 동물은 미국 NRC (1996)의 "실험동물의 관리와 사용에 관한 지침"에 따라 유지하였다.

시험군의 구성

임신 8일령의 암컷동물을 체중에 따라 0, 0.5, 1, 2 및 4 Gy의 5개 시험군에 무작위로 분배하였다. 각 군당 동물 수는 8마리로 구성하였다.

용량설정근거

이전 시험의 결과(Kim *et al.*, 2001)를 참조하여 명백한 발생독성이 나타날 것으로 예상되는 4 Gy를 최고농도로 설정하였고, 공비 2를 적용하여 2, 1 및 0.5 Gy의 저농도 군과 대조군을 추가하였다.

방사선 노출

실험용 방사선조사기(Gamma-cell Elan 3000, Nordion International, Canada)를 이용하여 임신 8.5일령의 마우스에 분당 10 Gy의 용량으로 각 용량별로 1회 조사하였다.

일반증상관찰 및 사망률

일반증상과 사망률은 방사선 노출 후 1일 1회씩 관찰하였다.

체중측정

임신동물의 개체별 체중은 임신 8일과 10일에 측정하였다.

부검 및 제왕절개

모든 동물을 임신 10일째 오후에 ethyl ether로 마취한 다음 부검하여 임신자궁을 적출한 다음 중량을 측정하였고, 착상수, 생존배아수 및 사망배아수를 조사하였다.

배아의 적출 및 관찰

먼저 미세가위로 자궁벽을 절개하여 배아가 들어 있는 탈락막(decidua)을 노출시킨 다음 포셉을 이용하여 탈락막내에 있는 10.5일령의 수태산물(conceptus)을 분리하였다. 난황주머니 순환(yolk sac circulation)과 난황주머니 직경(yolk sac diameter)을 관찰하고, 난황주머니를 절개하여 배아를 분리하였다. 배아에 대해서는 머리엉덩이 간 길이(crown-rump length)와 머리길이(head length) 및 체절수(somite number)를 측정하였다. 난황주머니 직경은 최대치와 최소치를 각각 측정하였으며, 머리엉덩이 간 길이는 중뇌(mesencephalon)의 첨단부로부터 엉덩이

까지의 최대 길이를, 그리고 머리길이는 전뇌(prosencephalon)의 전외측 팽출부인 중뇌(telencephalon)에서부터 능뇌(rhombencephalon) 미측부까지의 최대 길이를 측정하여 기록하였다. 배아의 발육 및 분화 정도에 대해서는 van Maele-Fabry *et al.*(1990)의 평가기준에 따라 점수화 하였으며, 형태학적 소견에 대한 용어는 Wise *et al.*(1997)이 보고한 실험동물의 발생학적 이상에 대한 용어 통일안을 기준으로 하여 표기하였다.

통계학적 분석

시험자료에 대한 통계분석은 SAS program(Statistical Analysis System Institute Inc., Version 6.12, NC, USA)을 이용하여 실시하였다. 통계학적 비교단위는 임신 동물 또는 동복자로 하였고, 시험결과는 가능한 한 평균 값과 표준편차로 표기하였다. 체중과 난황낭직경, 머리영덩이간 길이, 머리길이, 체절수 등의 모수값(parametric data)은 일원배치분산분석(one-way analysis of variance,

Table 1. Maternal findings and caesarean section data of pregnant mice irradiated with gamma-ray

Dose (Gy)	0	0.5	1	2	4
No. of females mated	8	8	8	8	8
No. of females pregnant	8	8	8	8	7
Body weight on GD 8	36.3 ± 2.86 ^a	37.4 ± 5.03	38.4 ± 4.93	36.7 ± 2.96	36.4 ± 3.78
Body weight on GD 10	38.5 ± 2.82	39.7 ± 5.16	40.6 ± 5.01	38.4 ± 2.68	38.0 ± 3.37
Gravid uterine weight	2.3 ± 0.15	2.0 ± 0.54	2.4 ± 0.16	2.6 ± 0.48	2.3 ± 0.33
Corrected body weight ^b	36.3 ± 2.65	37.6 ± 5.12	38.1 ± 4.83	35.8 ± 2.39	35.7 ± 3.26
Implantations	14.4 ± 2.50	13.0 ± 3.12	14.8 ± 1.58	14.3 ± 3.88	15.7 ± 1.80
Resorptions	0.3 ± 0.46	1.0 ± 0.76	0	0	2.3 ± 2.69*
Litter size	14.1 ± 2.90	12.0 ± 2.73	14.8 ± 1.58	14.3 ± 3.88	13.4 ± 2.51

Note: GD, gestational day.

^aValues are presented as means ± S.D.

^bCorrected body weight = body weight on gestational day 10 - gravid uterine weight.

*Significant difference at $p < 0.05$ level compared with the control group.

Table 2. Growth and development in embryos from pregnant mice irradiated with gamma-ray

Dose (Gy)	0	0.5	1	2	4
Litters examined	8	8	8	8	7
Embryos examined	113	96	118	114	94
Yolk sac diameter: maximum (mm)	5.4 ± 0.32 ^a	5.3 ± 1.02	5.3 ± 0.30	5.3 ± 0.13	3.6 ± 0.55**
minimum (mm)	4.8 ± 0.27	4.6 ± 0.80	4.7 ± 0.19	4.7 ± 0.45	3.1 ± 0.39**
Crown-rump length (mm)	4.9 ± 0.40	4.7 ± 0.98	4.8 ± 0.23	4.7 ± 0.52	2.9 ± 0.41**
Head length (mm)	2.7 ± 0.16	2.6 ± 0.51	2.6 ± 0.08	2.5 ± 0.37	1.5 ± 0.17**
No. of somite pairs	34.5 ± 1.11	33.1 ± 2.40	33.6 ± 1.17	32.7 ± 2.04**	16.4 ± 7.74**
Yolk sac circulation	5.0	4.6 ± 0.38	4.1 ± 0.56**	4.2 ± 0.50**	1.1 ± 0.15**
Flexion	5.0	5.0	5.0 ± 0.11	5.0	3.5 ± 1.51**
Allantois	3.0	2.9 ± 0.18	2.8 ± 0.20	2.6 ± 0.27**	1.3 ± 0.83**
Heart	5.0	5.0	5.0 ± 0.07	4.9 ± 0.11	2.6 ± 0.66**
Hind brain	5.0	4.8 ± 0.20	4.8 ± 0.23	4.7 ± 0.41	3.2 ± 0.55**
Mid brain	4.0	3.9 ± 0.19	3.8 ± 0.24	3.9 ± 0.23	3.2 ± 0.58**
Fore brain	5.0	4.8 ± 0.26	4.8 ± 0.29	4.7 ± 0.29	3.3 ± 0.70**
Caudal neural tube	5.0	5.0	5.0	5.0	3.6 ± 1.00**
Otic system	5.0	4.9 ± 0.21	4.9 ± 0.12	4.9 ± 0.12	3.3 ± 0.70**
Optic system	5.0	4.9 ± 0.28	4.7 ± 0.53	4.4 ± 0.55**	2.2 ± 0.81**
Olfactory system	3.0	2.9 ± 0.24	2.6 ± 0.36*	2.3 ± 0.54**	0.7 ± 0.37**
Branchial bars	2.9 ± 0.11	2.8 ± 0.28	2.8 ± 0.22	2.8 ± 0.19	1.0 ± 0.72**
Maxillary process	3.0	2.9 ± 0.14	2.9 ± 0.11	2.6 ± 0.28**	0.4 ± 0.42**
Mandibular process	3.0	3.0	3.0	2.8 ± 0.22	1.2 ± 0.86**
Fore limb bud	3.0	3.0	3.0	2.8 ± 0.19	1.3 ± 1.02**
Hind limb bud	2.0	1.9 ± 0.19	2.0 ± 0.11	1.7 ± 0.29	0.3 ± 0.49**
Somites	5.0	5.0	5.0 ± 0.07	5.0 ± 0.09	2.3 ± 1.34**
Total morphological score	68.9 ± 0.11	67.3 ± 1.93	66.2 ± 0.86	64.3 ± 3.32	34.5 ± 10.38**

^aValues are presented as means ± S.D.

*Significant difference at $p < 0.05$ level compared with the control group.

**Significant difference at $p < 0.01$ level compared with the control group.

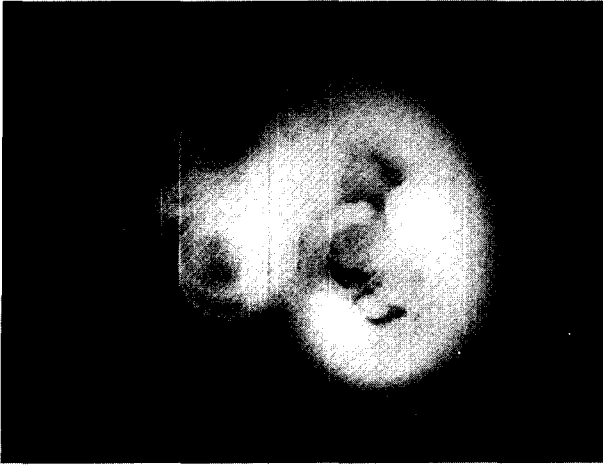


Fig. 1. Photograph of a control embryo, showing normal appearance.



Fig. 2. Photograph of an embryo from pregnant mice irradiated with gamma-ray at 2 Gy, showing craniofacial hypoplasia, shortened prosencephalon, and hematoma.

ANOVA)을 실시한 후 유의성이 인정되면 군간 차이를 조사하기 위해 Scheffe 다중비교법으로 유의차를 조사하였다. 착상수와 생존배아수, 사망배아수 등의 비모수값(non-parametric data)은 Kruskal-Wallis ANOVA로 유의성을 조사한 후 통계학적 차이가 인정된 자료는 Scheffe 다중비교법으로 군간 유의차를 조사하였다. 배아의 기형율과 기형배아를 가진 동복자율 등의 빈도자료는 Fisher's exact probability test로 유의차를 분석하였다. 전체적으로 검정의 유의수준은 1% 혹은 5%에서 검사하였다.

결 과

임신모체 및 생식성적에 대한 영향

시험기간 중 방사선 노출에 의한 임신동물의 일반증상과 사망 및 체중의 변화는 관찰되지 않았다(Table 1). 임신 10.5일째에 모동물을 제왕절개한 결과, 임신자궁중량과 모동물의 보정중량, 착상수 및 동복자수는 각 시험군간에 통계학적인 유의차가 인정되지 않았다. 반면, 최고용량군인 4 Gy 용량군에서의 흡수배아수는 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 증가하였다.

Table 3. Morphological alterations in embryos from dams irradiated with gamma-ray

Dose (Gy)	0	0.5	1	2	4
Embryos examined	113	96	118	114	94
Litters examined	8	8	8	8	7
Embryos with malformations (%) ^a	0	6 (6.3)**	10 (8.5)**	96 (84.2)**	94 (100)**
Litters affected (%) ^b	0	4 (50)	6 (75)	8 (100)*	7 (100)*
Abnormal rotation	0	0	0	2	53**
Hematoma	0	4*	3	54**	35**
Craniofacial hypoplasia	0	2	6*	15**	76**
Open anterior neuropore	0	2	3	6*	14**
Open cranial neuropore	0	2	3	10**	14**
Shortened prosencephalon	0	0	6*	24**	32**
Kinked somites	0	3	4	29**	23**
Irregular somites	0	0	0	11**	10**
Swelling	0	0	0	3	51**
Hydropericardium	0	0	0	5	25**
Absent branchial bar	0	0	0	0	26**
Absent limb bud	0	0	0	0	62**

^aA single embryo may be represented more than once in listing individual defects.

^bIncludes litters with one or more affected embryos.

*Significant difference at $p < 0.05$ level compared with the control group.

**Significant difference at $p < 0.01$ level compared with the control group.

배아 발생에 대한 영향

배아의 성장 및 발육에 대한 평가결과는 Table 2에서 요약하였다. 4 Gy를 조사한 최고용량군에서는 조사된 모든 평가항목의 결과가 대조군에 비해 각각 통계학적으로 유의성있게 감소하였다. 2 Gy 용량군에서는 난황주머니 순환과 요막, 안구계 및 후각계의 점수와 체질수가 대조군에 비해 각각 통계학적으로 유의성있게 감소하였고, 1 Gy 용량군에서는 난황주머니 순환과 후각계의 점수가 대조군에 비해 각각 유의성있게 감소하였다. 반면, 0.5 Gy 용량군에서는 어떠한 성장 및 발육 항목에서도 대조군과의 통계학적 유의차가 인정되지 않았다.

배아의 형태학적 이상유무를 관찰한 결과는 Table 3에 요약하였다. 모든 용량군에서 기형을 가진 배아수가 대조군(Fig. 1)의 결과에 비해 각각 통계학적으로 유의성있게 증가하였고, 2 및 4 Gy 용량군에서는 기형배아를 가진 동복자의 수가 대조군에 비해 유의성있게 증가하였다. 4 Gy 용량군에서는 시험된 94마리의 모든 배아가 기형을 가지고 있었으며, 관찰된 주요기형소견은 회전이상(abnormal rotation)과 혈종(hematoma, Fig. 2), 두개안면부 형성부전(craniofacial hypoplasia, Fig. 2), 신경구멍열림증(open neuropore), 전뇌단소(shortened prosencephalon, Fig. 2), 몸분절만곡(kinked somites), 몸분절불규칙(irregular somites), 종창(swelling), 심수종(hydropericardium), 인두굽이결손(absent branchial bar) 및 팔씩결손(absent limb bud)이었다. 2 Gy 용량군에서는 114마리의 배아 중 96마리(84.2%)가 기형을 가지고 있었고, 모든 동복자에서 기형이 관찰되었다. 관찰된 주요기형소견은 혈종과 두개안면부 형성부전, 신경구멍열림증, 전뇌단소, 몸분절만곡 및 몸분절불규칙이었다. 1 Gy 용량군에서는 118마리의 배아 중 10마리(8.5%)가 기형을 가지고 있었고, 8동복자 중에서 6동복자(75%)에서 영향을 받은 것으로 나타났다. 관찰된 주요 이상소견은 두개안면부 형성부전과 전뇌단소이었다. 최저용량군인 0.5 Gy 용량군에서는 96마리의 배아 중 6마리(6.3%)가 기형(혈종)을 가지고 있었고, 8동복자 중에서 4동복자(50%)가 영향을 받은 것으로 나타났다.

고 찰

본 연구는 착상 초기의 마우스 배아를 이용하여 방사선의 발생독성을 단기간에 평가할 수 있는 단기 최기형성 시험법을 확립하고자 수행하였다. 임신 8.5일령의 마우스에게 0, 0.5, 1, 2 및 4 Gy의 용량으로 방사선을 1회 조사한 후 임신 10.5일령의 모체를 제왕절개하여 배아의 발육과 분화에 미치는 영향을 평가하였다.

임신 8.5일령의 마우스에 4 Gy 이하의 방사선 조사는

48시간 동안 모동물의 일반증상과 사망, 체중, 임신자궁중량, 착상수 및 동복자수에 어떠한 영향도 끼치지 않은 것으로 나타났다. 반면, 흡수배아의 수는 최고용량군인 4 Gy 용량군에서 증가한 것으로 나타나 방사선조사가 착상초기 배아에 치사효과를 나타내는 것으로 확인되었다. 방사선조사에 의한 배아치사효과는 이전 연구(Kim *et al.*, 2001)에서도 확인된 결과로서, 본 시험의 연구결과는 방사선 조사 후 48시간째에 이미 배아사망이 증가한다는 것을 나타낸다.

Table 1에서 보는 바와 같이 1 Gy 이상의 용량군에서 관찰된 배아의 발육지연은 용량의존적으로 나타나 방사선의 노출에 의한 소견임을 명확히 나타낸다. 특히, 4 Gy 용량군에서는 시험된 모든 평가항목의 결과가 대조군의 결과에 비해 현저하게 감소하여, 심한 발육지연효과를 확인할 수 있었다. 2 Gy 용량군에서는 난황주머니 순환과 요막, 안구계 및 후각계의 점수와 체질수가 감소하였고, 1 Gy 용량군에서는 난황낭순환과 후각계의 점수가 감소하였다. 이러한 결과는 난황낭과 요막 및 안면부가 특히 방사선의 발육지연효과에 민감하다는 것을 암시해 준다.

배아의 형태학적 이상유무를 관찰한 결과, 모든 용량군에서 기형을 가진 배아수가 용량의존적으로 증가하였다. 관찰된 주요 기형소견은 배아의 회전이상과 혈종, 두개안면부 형성부전, 신경구멍열림증, 전뇌단소, 몸분절만곡, 몸분절불규칙, 종창, 심수종, 인두굽이결손 및 팔씩결손이었다. 특히, 혈종과 두개안면부 형성부전, 신경구멍열림증 및 몸분절만곡 소견은 최저선량인 0.5 Gy 용량군에서도 관찰되어 피부와 두부, 신경계 및 척추가 다른 부위에 비해 방사선 조사에 더욱 민감하게 반응한다는 것을 나타낸다. 방사선의 노출이 발생중인 중추신경계에 작용하여 신경조직의 형성과 신경세포의 발달에 장애를 유발한다는 것은 이전 연구에서도 잘 증명된 바 있다(Schull *et al.*, 1990; 이 등, 2001). 최근에 수행된 Kim *et al.* (2001)의 연구에 따르면, 임신 마우스에 0.5~4.0 Gy의 방사선을 노출하면 임신말기의 태아에서 소두증과 구개열, 측뇌실 확장, 콩팥갈대기확장, 사지기형, 꼬리기형이 유발된다고 한다. 방사선 조사 후 48시간째에 제왕절개하여 배아의 성장 및 발육상태를 관찰한 본 시험에서도 상기 연구자들이 임신말기 태아에서 관찰한 기형과 유사한 기형소견들을 확인할 수 있었다. 방사선피폭은 세포분열의 억제와 염색체의 손상을 유발하기 때문에 매우 높은 세포증식을 나타내는 기관형성기의 배아는 방사선의 노출에 취약성을 나타낸다. 임신 중 방사선피폭이 다양한 형태의 배아독성과 최기형성을 유발한다는 많은 연구를 통해서 잘 증명되었다(Jacobson, 1965; Miller and Blot, 1972; Uma Devi and Hossainm, 2001).

배아독성과 최기형성을 평가하기 위한 표준화된 배·태

아발생독성 시험법은 개체수준에서 독성을 직접 확인할 수 있는 좋은 방법이기기는 하지만 많은 동물과 인력, 경비 및 시간이 소요되는 단점이 있다(정과 김, 2000; Kim *et al.*, 2004). 따라서 방사선의 노출에 의해 유발되는 발생 독성을 보다 효과적이고 단기간에 검색할 수 있고, 이를 통해 방사선 방호물질을 검색할 수 있는 단기 최기형성시험법 개발의 필요성이 대두되게 되었다. 설치류 배아를 이용한 시험관내 최기형성의 평가에는 많은 구조들의 원기(primordium)가 출현해 기관발생이 가장 활발하게 일어나는 착상초기 배아를 주로 이용하고 있다(New, 1978; Neubert, 1982). 랫드의 경우, 주로 임신 9.5일령의 머리주름기(head-fold stage)를 나타내는 착상초기의 전배아를 배양에 이용하고 있으며, 마우스의 경우에는 이와 유사한 발생단계를 나타내는 임신 7.5일령의 전배아나 초기 몸분절기(early somite stage)를 나타내는 임신 8.5일령의 전배아가 배양에 이용된다(김 등, 1998). 시험관내 배양은 주로 48시간 동안 실시하며, 배양된 배아의 성장 및 분화 정도에 대해서는 van Maele-Fabry *et al.* (1990)의 평가기준이 가장 많이 이용되고 있다. 본 연구에서는 시험관내 전배아배양법을 응용하여 마우스 생체내 단기 최기형성시험을 수행하였다. 임신 8.5일령의 마우스를 이용하여 방사선을 조사한 후 48시간째에 제왕절개하여 배아의 성장 및 발육 상태를 관찰한 결과, 임신말기 태아에서 관찰되는 기형 및 발육지연과 질적 및 양적으로 유사한 것으로 나타났다. 따라서 본 시험방법은 방사선의 발생독성을 단기에 효율적으로 검색할 수 있는 유용한 시험법인 것으로 사료된다.

결론적으로, 본 시험에서는 임신 8.5일령의 마우스를 이용하여 방사선의 발생독성을 단기간에 효율적으로 검색할 수 있는 단기 최기형성 시험법을 확립하였다. 본 시험 방법은 방사선의 발생독성 잠재력을 단기간에 효율적으로 평가할 수 있는 유용한 검색방법인 것으로 판단되며, 방사선 발생독성의 방호물질 검색에도 유용하게 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 원자력연구개발사업의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 김종춘, 임광현, 정문구, 노정구 (1998): 랫드에 있어서 배양배아에 대한 phenytoin의 최기형성 연구. *한국독성학회지*, **14**, 357-363.
- 이종환, 오현, 김세라, 이혜준, 김태환, 이운실, 김성호 (2001): 태아시기의 방사선 노출에 의한 마우스 뇌 발달에 미치는 영향에 관한 형태학적 연구. *대한수의학회지*, **41**, 395-400.
- 정문구, 김종춘 (2000): 의약후보물질의 생식독성평가 원칙 및 방법. *한국독성학회지*, **16**, 229-238.
- Aolad, H.M., Inouye, M., Hayasaka, S. and Murata, Y. (2000): Hydrocephalus in mice following X-irradiation at early gestational stage: possibly due to persistent deceleration of cell proliferation. *J. Radiat. Res.*, **41**, 213-226.
- BEIR Report III, Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiations (1980): The effects of populations of exposure to low levels of ionizing radiation. Washington, DC, National Academy Press, p. 524.
- Jacobson, L. (1965): Low-dose embryonic X-radiation in mice and some seasonal effects in the perinatal period. *Radiat. Res.*, **25**, 611-625.
- Kim, J.C., Kim, S.H., Shin, D.H., Ahn, T.H., Kim, H.C., Kim, Y.B., Jiang, C.Z., Han, J. and Chung, M.K. (2004): Effects of prenatal exposure to the environmental pollutant 2-bromopropane on embryo-fetal development in rats. *Toxicology*, **196**, 77-86.
- Kim, J.C., Shin, D.H., Kim, S.H., Ahn, T.H., Kang, S.S., Jang, B.S., Kim, C.Y. and Chung, M.K. (2003): Developmental toxicity evaluation of the new fluoroquinolone antibacterial DW-116 in rats. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, **23(Suppl. 1)**, 123-136.
- Kim, S.H., Lee, J.H., Oh, H., Kim, S.R., Lee, C.S., Jo, S.K., Kim, T.H. and Lee, Y.S. (2001): Dependence of malformation upon gestational age and exposed dose of gamma radiation. *J. Radiat. Res.*, **42**, 255-264.
- Kusama, T. and Ota, K. (2002): Radiological protection for diagnostic examination of pregnant women. *Cong. Anom.*, **42**, 10-14.
- Miller, R.W. (1990): Effects of prenatal exposure to ionizing radiation. *Health Phys.*, **59**, 57-61.
- Miller, R.W. and Blot, E.J. (1972): Small head size after in utero exposure to atomic radiation. *Lancet*, **2**, 784-787.
- Neubert, D. (1982): The use of culture techniques in studies on prenatal toxicity. *Pharmacol. Ther.*, **18**, 397-434.
- New, D.A.T. (1978): Whole embryo culture and the study of mammalian embryos during organogenesis. *Biol. Rev.*, **53**, 81-122.
- NRC (National Research Council), (1996): Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Research Council. National Academy, Washington, USA.
- Schull, W.J., Hicks, S.P. and Jensch, R.P. (1990): Ionizing radiation and the developing brain. *Neurotoxicol. Teratol.*, **12**, 249-260.
- Uma Devi, P. and Hossain M. (2001): Effects of early fetal irradiation on the postnatal development of mouse. *Teratology*, **64**, 45-50.
- van Maele-Fabry, G., Delhaise, F. and Picard, J.J. (1990): Morphogenesis and quantification of the development of post-implantation mouse embryos. *In Vitro*, **4**, 149-156.
- Wise, L.D., Beck, S.L., Beltrame, D., Beyer, B.K., Chahoud, I., Clark, R.L., Clark, R., Druga, A.M., Feuston, M.H., Guittin, P., Henwood, S.M., Kimmel, C.A., Lindstrom, P., Palmer, A.K., Petrere, J.A., Solomon, H.M., Yasuda, M. and York, R.G. (1997): Terminology of developmental abnormalities in common laboratory mammals (Version 1). *Teratology*, **55**, 249-292.