

ICR 마우스의 胎兒에 對한 放射線과 超音波의 共同效果에 관한 實驗的 檢討

東京大學 醫學部 放射線健康管理學教室
具 然 和

Abstract

Combined Effects of Radiation and Ultrasound on Embryonic Development in Mice

Yeun Hwa Gu

Dept. of Radiological Health, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan

The combined effect of radiation and ultrasound has been studied in mouse embryos. Radiation and/or ultrasound were administered to ICR mice on day 8 of gestation. Intrauterine death, gross malformation, and fetal body weight were selected as indicators of effects. Doses of whole-body γ -irradiation were 0.5 to 2.5 Gy and those of ultrasound were 0.5 W/cm² to 3 W/cm². Intrauterine mortality increased with increasing radiation dose; this trend was more remarkable in combination with ultrasound. Gross malformations such as exencephaly and anophthalmia/microphthalmia appeared frequently in the fetuses treated with both radiation and ultrasound. Decreased fetal weight was observed even in mice treated with 1.5 Gy of radiation or 1 W/cm² of ultrasound. There was a linear relationship between dose and reduction of fetal weight. The fetal weight was sensitive, precise and easy-to-handle indicator for the effects of growth retardation.

Intrauterine mortality and frequencies of exencephaly and anophthalmia/microphthalmia were higher than the sum of those induced by radiation and by ultrasound. The results indicated that the combined action of radiation and ultrasound on intrauterine death and malformations was synergistic.

I. 緒 論

胎兒는 성인과 어린이에 비해 수많은 環境要因에 對해서 感受性이 높고 安全問題를 생각할 때에는 特別히 着案하지 않으면 안될 個體이다. 이 研究에서는 環境要因 中에 物理的 因子인 電離放射線과 非電離

放射線(超音波)에 着案해서 胎兒影響에 관해서 檢討했다. 放射線과 超音波를 이용한 診斷은 現在의 臨床 醫學에 있어서 빼놓을 수 없는 것으로서 放射線과 超音波의 診斷에 의한 胎兒에 미치는 影響은 醫療關係者만이 아니고 社會的으로도 注目되고 있다^{7,8,10)}.

또한 現代醫療에서는 여러 가지 다양한 檢査가 併用해서 行해지고 있기 때문에 放射線 診斷과 超音波 診斷이 併用되는 機會가 많다^{4,13)}. 이러한 狀況에도 불구하고 放射線과 超音波를 併用했을 때에 胎兒影響에 관한 檢討는 行해지고 있지 않은 事實이다. 또한 放射線 診斷과 달리 超音波 診斷은 妊娠確定 診斷으로서 대부분 妊婦에 對해서 行해지고 있는 實態이다. 超音波 診斷이 行해지고 있는 시기는 器官形成期에서 胎兒期까지 넓은 時期에 이른다. 또 하나 超音波는 治療領域으로 利用되고 있다. 이러한 超音波는 生體에 어떤 影響을 주기 위하여 이용하는 것이다. 그렇기 때문에 超音波 強度가 높다는 것이 特徵이다. 이러한 超音波의 物理的인 要因에 의한 影響을 防護·安全上의 立場에서 檢討할 필요가 있다^{16,27,30,38)}. 그래서 放射線과 超音波가 醫療領域에서 바르게 사용되어 사회에 덕이 될 수 있게 電離·非電離 放射線の 防護·安全, 管理의 立場에서 실수 없게 사용되어야 할 것이다^{3,9,37)}. 미래에 더욱더 放射線과 超音波를 이용한 尖端機器가 醫療領域에서 사용되는 것을 豫想해서 그 對策도 必要하다는 目的에서 本 研究를 行했다.

II. 研究方法

1. 使用動物

實驗動物로서는 ICR系(Swiss Hauschka)의 SPF 마우스(♀ 9~13週齡, ♂ 9~15週齡)을 使用했다. 암컷 마우스를 오전 6시에서 9시까지 3時間동안 수컷 마우스와 居住시켜 妊娠하게 했다. 午前 9시에 腔栓(vaginal plug)을 관찰해서 妊娠을 確認했다. Plug가 확인된 마우스는 午前 8시에 受精한 것으로 해서

그 時點을 ○日 ○時로 胎兒年齡을 起算했다^{1,5,17)}.

2. 放射線 照射方法

89.9 TBq(2.427 Ci)의 Cs-137 γ 線을 使用했다. 放射線 線量은 0.5 Gy, 1.5 Gy, 2.5 Gy이다. 線量率은 어느 線量도 같이 0.2 Gy/min으로 했다. 妊娠 8日된 마우스를 plastic製 照射 gauge에 넣어 全身 조사했다. Control群으로서는 전혀 處置하지 않은 無處置를 使用했다.

3. 超音波 照射方法

超音波 發生裝置는 水槽式連續 超音波 發生裝置를 사용했다. 發振器의 面積은 108 cm²(8 cm×13.5 cm), 發信周波數는 1 MHz이다. 超音波 照射強度는 0.5 W/cm², 1 W/cm², 2 W/cm², 3 W/cm²로 4 群으로 해서 照射時間을 10분간으로 했다. 胎齡 8日에 妊娠 마우스를 超音波 照射 gauge에 넣어 照射했다. 照射 때의 水温은 37±0.5°C로 保存했다. 發振器로부터 마우스 腹部까지의 距離는 13 cm로 했다. Control群으로서는 恒溫槽에 10分間 넣었던 群을 control群으로 했다^{19,21)}.

4. 放射線과 超音波의 併用照射方法

放射線 線量은 1.5 Gy(線量率 0.2 Gy/min)으로 했다. 超音波는 1 W/cm², 1 MHz, 10分 照射했다. 放射線과 超音波의 照射間隔은 ① 超音波 照射와 放射線의 同時照射, ② 超音波 照射 1時間 후에 放射線 照射, ③ 放射線 照射 1時間 후에 超音波 照射로 했다. 使用動物 마리수는 Table 1에 나열했다.

Table 1. Numbers of experimental animals(Dams)

Radiation	0.5 Gy	1.5 Gy	2.5 Gy	
No. Dams	23	20	20	
Ultrasound	0.5 W/cm ²	1 W/cm ²	2 W/cm ²	3 W/cm ²
No. Dams	20	20	20	20
Radiation+Ultrasound	1 W/cm ² +1.5 Gy(0)* ¹	1 W/cm ² +1.5 Gy(1)* ²	1.5 Gy+1 W/cm ² (1)* ²	
No. Dams	12	20		17

*¹ Simultaneous irradiation

*² 1 hr interval

5. 胎兒 奇形觀察

胎兒年齡 18日에 母獸를 頸椎胎兒로서 屠殺해 그 다음 開腹하여 妊娠 마우스로부터 胎兒를 꺼냈다. 子宮內 死亡, 生存 胎仔數, 外表奇形, 胎兒의 性別 및 胎兒體重을 觀察했다. 또한 子宮內 死亡은 前期 死亡(着想痕, 胎盤遺殘), 後期死亡(吸收胚, 浸軟胎兒)으로 분리해서 觀察했다^{11,12,14,15}.

外表奇形은 實體顯微鏡으로 外腦症, 口蓋裂, 開眼, 無眼球, 小眼球症, 水頭症, 頭部血腫·丘疹, 鼻上血腫 四肢異常, 頸部, 腹部血腫, 服壁破裂, 背部血腫, 尾異常, 鎖肛 등에 관하여 觀察했다^{20,22,28,36}.

III. 研究結果

1. 放射線 單獨照射時的 胎兒影響

1) 子宮內 死亡

早期死亡率和 後期死亡率에 있어서는 2.5 Gy 照射群의 死亡率이 control群의 死亡率에 비해 5倍에서 27倍이고 統計的으로도 명확한 有意差($P < 0.001$)가 있었다(Fig. 1 참조). 胎齡 8日 照射의 子宮內 死亡 threshold dose는 1.5 Gy~2.5 Gy 사이이다.

2) 外表奇形

Control-1에 있어서의 外表奇形 發生率은 3.3%인데 對해서 0.5 Gy에서는 10.1%로써 有意差가 보이기 때문에 奇形의 threshold dose는 0.5 Gy 以下인 것을 알 수 있다. 鼻上血腫도 奇形種類的 하나로 관

여하고 있다. 外腦症의 發生率은 0.5 Gy群에서는 0.4%, 1.5 Gy 照射群에서는 5.7%, 2.5 Gy群에서는 3.7%이었다. 外腦症에 관한 threshold dose는 0.5 Gy~1.5 Gy 사이이다. 無眼球症은 control-1群과 0.5 Gy 照射群에서는 發生하지 않았다. 그러나 1.5 Gy 照射群에서는 0.3%의 發生率을 가리켰지만 有意差는 없고 2.5 Gy 照射群에 있어서는 32.8%를 가리켰다.

Threshold dose는 1.5 Gy~2.5 Gy 사이이다. 꼬리의 異常은 0.5 Gy 照射群에서 2.2%, 1.5 Gy 照射群에서 1.9%이었다. Control-1群과 비교했을 때 有意差가 보였다. 또한 2.5 Gy 照射群에서는 88.7%의 높은 發生率을 보여 統計學的인 有意差가 매우 있었다. 꼬리 이상에 관한 threshold dose는 0.5 Gy와 1.5 Gy사이 이었다. 그러므로 外表奇形의 threshold dose는 胎兒死亡의 threshold dose보다 낮다.

3) 胎兒體重

胎兒體重은 암수 둘다 放射線被[■]에 의해 減少했다. Control-1群의 암수平均 胎兒體重(♂ : 1.341 g, ♀ : 1.298 g)과 2.5 Gy 照射群의 암수平均 胎兒體重(♂ : 1.012 g, ♀ : 0.998 g)과는 암컷 0.30 g, 숫컷 0.33 g 減少가 確認되었다.

2. 超音波 單獨 照射時的 胎兒影響

1) 子宮內 死亡

早期死亡, 後期死亡은 超音波 照射群 4群 모두 control群과 비교해서 統計的인 有意差는 없었다(Fig. 2 참조).

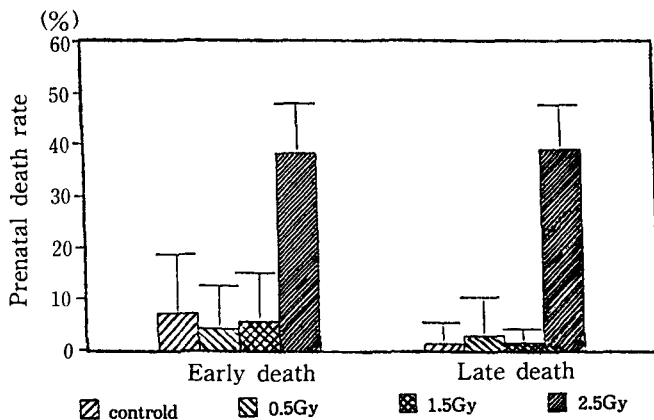


Fig. 1. Prenatal death of irradiated mice

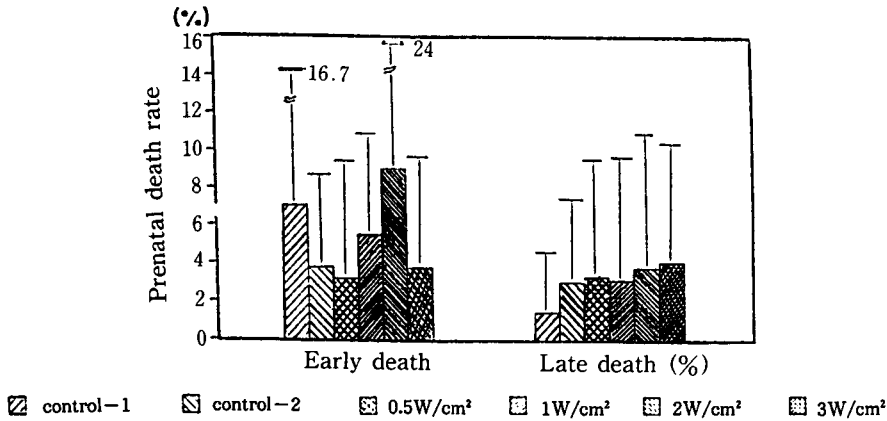


Fig. 2. Prenatal death of ultrasonic irradiated mice

2) 外表奇形

外腦症은 control-1群과 control-2群에서는 確認되지 않았지만 超音波 照射群에 있어서는 0.5 W/cm² 조사군 0.8%, 1 W/cm² 조사군 0.4%, 2 W/cm² 조사군 1%, 3 W/cm² 조사군 1.2%의 發生率이었다. 그러므로 外腦症의 發生率은 超音波 強度에 依存하지 않은 것을 알 수 있다. 그러나 0.5 W/cm² 에서도 外腦症이 確認되어 外腦症의 threshold dose 는 0.5 W/cm² 以上임을 알 수 있다. 꼬리의 이상은 0.5 W/cm²에서 0.6%와 2 W/cm²에서 1.6%로써 他照射群에 비해서 有意하게 높았다.

3) 胎兒體重

超音波 照射에 의한 胎兒體重에 관해서는 超音波 照射群 4群 모두 control群에 비해서 有意差는 없었

다.

3. 超音波와 放射線의 併用照射에 의한 胎兒 影響

1) 子宮內 死亡

早期死亡率은 同時照射群과 單獨照射群을 비교했을 때 有意差는 없었다. 그러나 1時間 間격을 둔 두 개의 照射群에 있어서는 放射線과 超音波의 單獨照射群과 비교해서 有意差가 있었다. 後期死亡率은 放射線과 超音波의 併用照射群의 照射時間 間隔에 관계없이 併用照射群의 모두에 있어서 放射線 單獨照射群과 超音波 單獨照射群을 비교했을 때 有意하게 높았다(Fig. 3 참조).

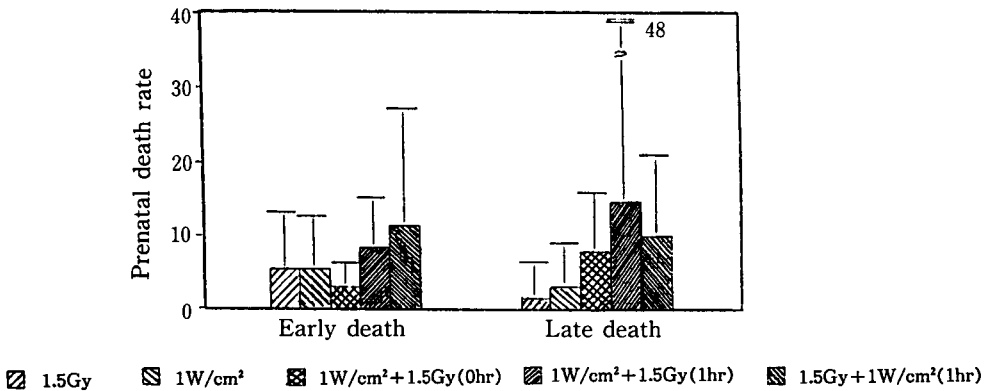


Fig. 3. Prenatal death of radiation puls ultrasonic irradiated mice

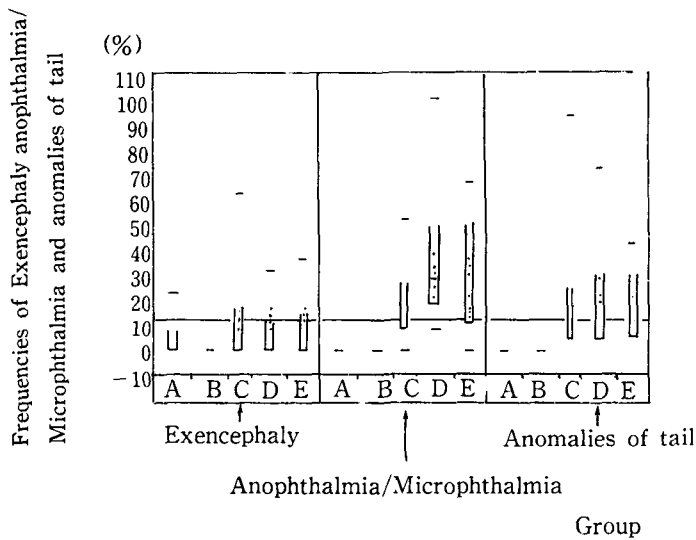


Fig. 4. Frequencies of exencephaly anophthalmia/Microphthalmia and anomalies of tail

2) 外表奇形

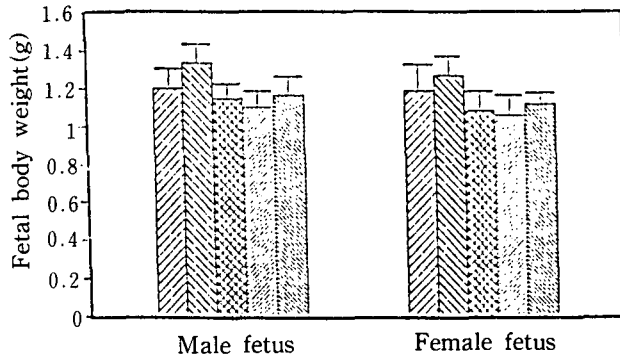
外腦症은 放射線 單獨照射群에서는 5.7%, 超音波 單獨照射群에서는 0.4%이었으나 放射線과 超音波의 同時照射群에서는 15%이었다. 또한 超音波 1 W/cm² 照射한 후 1時間 후에 放射線 1.5 Gy 照射한 群에서는 8.1%, 放射線 1.5 Gy 照射한 후 1時間 후에 超音波 1 W/cm² 照射한 群에서 10%로 높은 發生率이었다. 꼬리의 이상은 超音波 單獨照射群에서는 2.07%, 放射線 單獨照射群에서 1.9%이었다. 그러나 併用照射 3群에 있어서는 同時照射群이 12.8%, 1 W/cm² 照射 후 1時間 후에 1.5 Gy 照射群 11%, 1.5 Gy 照射 후 1時間 후에 1 W/cm² 照射群 8.0%로써 單獨照射群을 單純加算한 數値에 비해 높은 發生率을 보였다. 無眼球症/小眼球症은 超音波의 單獨照射群에서는 전혀 發生하지 않고 放射線 單獨照射群에서는 0.3%이었다. 그러나 併用照射群에서는 同時照射群이 2.6%, 1 W/cm² 照射 후 1時間 후에 1.5 Gy 照射한 群이 37%, 1.5 Gy 照射 후 1時間 후에 1 W/cm² 照射群이 29.9%로써 發生率이 급격히 增加했다(Fig. 4 참조). 外腦症, 꼬리의 異常, 無眼球症/小眼球症의 發生에 對해서 胎齡 8日의 放射線과 超音波의 併用 照射는 相乘的으로 作用함인 本 研究로부터 밝혀졌다.

3) 胎兒體重

超音波와 放射線의 併用照射群 3群 모두 control 群에 비해서 0.2 g 정도 體重減少가 보였다(Fig. 5 참조).

IV. 考 察

放射線 被曝의 경우 奇形(外腦症)의 threshold dose는 0.5 Gy~1.5 Gy 사이이고 胎死의 threshold dose는 1.5 Gy~2.5 Gy사이 이었다. 또한 超音波 照射의 경우 奇形의 threshold dose는 0.5 W/cm²보다도 낮은 곳에 있었고, 胎死亡의 threshold dose는 3 W/cm²를 넘는 곳에 있었다. 放射線과 超音波같이 奇形發生의 threshold dose가 胎死亡의 threshold dose보다도 낮다. 外腦症, 꼬리의 異常(短縮/屈曲), 無眼球症/小眼球症은 모두가 缺損型의 奇形으로써 各 器官의 原基의 細胞死가 奇形發生에 關係하고 있다^{31,32,39}. 胎死亡도 標的臟器·組織이 어느 臟器·組織인지는 不明確하다. 細胞死가 原因이라 할 수 있다. Threshold dose의 차이는 奇形 또는 死亡에 關係하는 標的臟器·組織의 感受性的의 차이 또는 奇形發生의 근원인 原基를 構成하는 critical한 細胞數 또는 胎死亡의 경우에도 마찬가지로 critical한 細胞



1.5Gy
 1W/cm²
 1W/cm²+1.5Gy(0hr)
 1W/cm²+1.5Gy(1hr)
 1.5Gy+1W/cm²(1hr)

Fig. 5. Fetal body weight of radiation puls ultrasonic irradiated mice

數의 차이 등이關係한다고 할 수 있다^{33,34,35)}

本 研究結果 併用照射에 의한 胎兒影響中 어느 것이든 ω 值(共同效果係數值)는 1.0을 넘고 있어 放射線과 超音波를 併用했을 때 胎兒死亡과 外表奇形의 兩者는 相乘的으로 作用한다는 것은 實驗的으로 明確해졌다. 相乘效果의 程度는 併用照射의 時間間隔에는 關係 없었다.

이러한 것으로 보아 超音波에 의한 細胞死는 cavitation에 의한 DNA의 損傷이라고 할 수 있다. 胎兒의 確定的 影響(子宮內 死亡, 奇形發生)에 對해서 放射線과 超音波는 相乘的으로 作用함이 本 研究로부터 밝혀졌다. 胎兒의 安全問題를 생각할 때에 電離放射線과 非電離放射線이 複數의 要因으로써 作用한다는 것을 考慮해야 할 것이다. 이와같은 相乘的 作用에 關한 對策의 必要性을 本 實驗結果로부터 示唆해 준다.

參 考 文 獻

1. Principles of Animal Extrapolation, Edward J. Calabrese, SOFT SCIENCE INC. 邦譯: 動物種差と外挿, 松岡 理, 小林定善, ソフトサイエンス社, 1984.
2. Clarke, P.R., Hill, C.R. and Adams, K.: Synergism between ultrasound and X-ray in tumour therapy. S. Radiol., 43, 1970.
3. 超音波의 放射線에 及ぼす 影響(第一報), ⁶⁰Co γ

線と 1 MHz 超音波의 化學的 效果의 比較, 日本超音波醫學會雜誌 第36卷 第8號, 藤田勝三, 石垣武男, 佐久間貞行, 1977.

4. 超音波의 安全性에 對한 檢討-ICR系 妊娠マウス에 對する 照射實驗-, 超音波醫學 Vol.4, No.4, 原量宏, 箕浦茂樹, 岡井嵩, 坂本正一, 1977.
5. 胎兒의 奇形에 關する 放射線と 超音波의 共同效果, 日本超音波影響學會, 第32回, 要旨集, 長谷川恭成, 杉浦紳之, 草間朋子, 1989.
6. ICRP Publication 6, Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, ICRP(International Commission on Radiological Protection, 邦譯: 國際放射線防護委員會勸告, 日本アイソトープ協會, 丸善(東京), 1962.
7. ICRP Publication 26, Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, ICRP(International Commission on Radiological Protection), Annals of the ICRP 1(3), 邦譯: 國際放射線防護委員會勸告, 日本アイソトープ協會, 丸善(東京), 1977.
8. 醫學大辭典, 南山堂, 1985.
9. 醫用超音波ハンドブック, 日本電子機械工業協會編(コロナ社), 1985.
10. 放射線診斷における 被曝의 管理, 日本放射線醫學學會, 日本アイソトープ協會編, 1987.

11. 放射線防護の基礎(日刊工業新聞社), 草間朋子, 辻本 忠, 1989.
12. 放射線防護の考え方(日刊工業新聞社), 草間朋子, 別所遊子, 太田勝正, 甲斐倫明一著, 1990.
13. Liebeskind, D. Bases, R. Elequin, F. Neubort, S. Leifer, R. Goldberg, R. and koenigsberg, M. : Diagnostic Ultrasound, Effects on the DNA and growth patterns of animal cells radiology, 131. 177~184, 1979.
14. 実験動物からヒトへの外挿, ソフトサイエンス社, 松岡 理, 1978.
15. 先天性代謝異常・染色体異常・奇形, メジカルビュー社, 小林 登, 1984.
16. M. Molls, C. Streffer, D. Van Beuningen and N. Zamboglou, X irradiation in G2 Phase of two-cell mouse embryos in vitro : cleavage, blastulation, cell kinetics and fetal development. Radiat. Res. 91, 219~234, 1982.
17. M. Molls, N. Zambogloun and C. Streffer : A Comparison of the cell kinetics of pre-implantation mouse embryos from two different mouse strains. Cell Tissue Kinet. 16, 277~283, 1983.
18. The Mouse, Its Reproductive and Development, Robers Rugh, Burgess Publishing Company, Minneapolis, 1968.
19. Okumura, Yuchiyama, Y. : A model of growth kinetics of irradiated cultured cells. Int. J. Radiat. Biol., 26 : 321~330, 1974.
20. R.O Rahilly, Early human development and the chief sources of information on staged human embryos, Europ. J. Obstet. Gynec. 9, 273~280, 1979.
21. M.H. Repacholi, J.P. Woodcock, D.L. Newman, K.J.W. Taylor : Interaction of low intensity ultrasound and ionizing radiation with the tumour cell surface. Phys. Med. Biol., Vol. 16, No. 2, 221~227, 1971.
22. 超音波パルス波の安全性に関する研究, 一動物実験と臨床統計一, 超音波醫學, Vol.8, No.4, 坂本正一, 岡井嵩, 原 量宏, 1981.
23. 醫學のための放射線生物学, 秀潤社, 坂本澄彦, 佐久間貞行, 1985.
24. 胚に対する超音波照射の影響, ラット胎仔に対する連続波照射の影響, 超音波醫學會雑誌, 關場 香, 内海恭三, 1980.
25. 低出力超音波のマウス胎児におよぼす影響, 日本超音波醫學會講演論文追補, パー2, 清水哲也, 東海林隆次郎, 1971.
26. 超音波照射の安全性に関する実験的検討, 日本超音波醫學會講演論文集, 清水哲也, 田中邦雄, 池内達郎, 1975.
27. 超音波パルス波の生體作用に関する基礎的研究, 超音波醫學, Vol.8, No.4, 1981.
28. Spring, E. : Increased radiosensitivity following simultaneous ultrasonic and gamma-ray irradiation. Radiology, 93, 1969.
29. 実験動物學各論, 朝倉書店, 田鶴嘉雄, 1973.
30. 超音波胎児診断に関する調査ならびに子宮内超音波強度の測定, 超音波醫學, Vol.4, No.4, 竹内久彌, 1977.
31. 妊娠マウスにおける超音波連続波照射の胎仔への影響. Vol.4, No.4, 立花仁史, 立花義史, 鈴木雅洲, 1977.
32. 超音波パルス波の胎児・母體生理におよぼす影響に関する研究—超音波パルス波の妊娠マウスにおよぼす影響—, Vol.4, No.4. 高林俊文, 阿部洋一, 佐藤信二, 佐藤 章, 鈴木雅洲, 1981.
33. Iodd, P. and Schroy, M.S. : X-ray inactivation of cultured mammalian cell : Enhancement by Ultrasound. Radiology, 113, 445~447, 1977.
34. UNSCEAR (United Nation Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation). Report, 1969.
35. James G. Wilson and F. Clarke Fraser, handbook Teratology Volume 1 : General Principles and Etiology, Plenum Press, 1979.
36. James G. Wilson and F. Clarke Fraser, Handbook Teratology Volume 2 : Mechanisms and Pathogenesis, Plenum Press, 1979.
37. Woeber, K. : The effect of ultrasound in the treatment of cancer. In "ultrasonic Energy :

- Biological investigations and medical applications" University of Illionis press, Urban, 1965.
38. WHO(World Health Organization) . Environmental Health Criteria 22 Ultrasound, WHO Geneva, 1982.
39. 胎児の放射線防護に對する考之方—10日 規則を中心にして—, 畫像診斷, 6(5), 514 ~518, 吉澤康雄, 草間朋子, 1986.