

超音波에 대한 ICR Mouse 着床前期의 個體 Level 影響(奇形·胚死亡)으로부터 超音波의 物理學的 特性에 대한 研究

嶺南大學校 理科學 物理學科
宋在寬·金禮顯

Abstract

Embryonic Effects of Ultrasound Irradiation on Preimplantation Stage of ICR Mouse Embryos

— About embryonic death and malformation of ultrasound mechanisms —

Jae Kwan Song · Ye Hyun Kim

Dept. of Physics, Yeung Nam University

Embryos and fetuses are more sensitive to various environmental agents than adults of children biological effects following the exposure, such as intrauterin, malformation, have intimate conception with the prenatal exposure. There have been many studies on radiation and other agent. However, information about the ultrasound effects is limited. It is very important to study the effect of ultrasound with these kinds of fatera in consideration of ultrasound protection and safty.

In this study, embryonic and fefal effects of ICR mouse embryos irradiated on 24, 48, 12 and 192 hpc of preimplantation and organogenesis period at the intensity of 0.5~3 W/cm² were investigated. Many type of external malformation observed in mouse irradiated on 72 hpc and 192 hpc. However, the embryos irradiated on 24 hpc and 48 hpc, at witch embryos had less then 6 cells and were pre-compaction stage, had no sensitivity for external malformation.

The threshold doses of external malformation in mouse irradiated on 72 hpc and 192 hpc, at which embryos were consisted of 16~32 cells and neural formation stage, were 1 W/cm² and 0.5 W/cm².

I. 緒 論

最近 醫療領域에 있어서 超音波는 필수적인

裝備이다. 이와 같이 超音波가 많이 利用되고 있기 때문에 超音波 影響에 관해서도 醫療關係者 뿐만이 아니라 一般 公衆까지 心慮하는 상

태이다. 특히 一般 公衆에 있어서도 매우 위험성이 높은 胎兒는 여러 環境 要因 중에서 어린이와 成人보다도 더욱 더 感受성이 높다¹⁾. 그래서 이 연구는 超音波를 사용하여 生物學的 影響으로부터 超音波의 物理學的 特性 즉, 超音波의 mechanism에 관하여 檢討하였다. 胎兒에 대한 奇形의 影響은 Russell과 Russell 및 Rugh 등에 의하여 器官形成期만이 局限되어 時期 特異성을 가지고 일어난다고 報告되어 왔다^{2~5)}. 그러나 最近 具然和의 論文⁶⁾에 의하면 着床 前期에 있어서도 放射線에 의하여 奇形이 일어남과 더불어 오히려 器官形成期 보다도 감수성이 높다고 하는 報告로부터 本 研究는 着床 前期와 器官形成期에 있어서 超音波의 影響에 관하여 研究 檢討를 하였다.

着床 前期에 重點을 둔 것은 着床 前期는 특히 妊婦가 妊娠 여부를 分別할 수 없는 時期이기에 이러한 要因을 意圖의으로 피할 수가 없다. 그렇기 때문에 着床 前期의 影響을 충분히 檢討한 후에 超音波 防禦對策에 관해서도 研究할 必要性이 있다. 이와 같이 超音波의 mechanism을 精確히 把握하여 影響도 考慮한 후에 有效하게 사용되어야 할 것이다.

超音波가 어떠한 mechanism에 의하여 人體에 影響을 미치는가? 예를 들면 超音波에 의한 溫熱效果인지 cavitation 效果인지를 究明하는 것이 本 研究의 目的이다. 또 하나의 目的은 感受성이 매우 높은 胎兒를 대상으로 하여 超音波 安全 또는 防護對策을 정하는 것도 이 研究 目的의 하나이다.

II. 研究方法

1. 實驗動作

ICR(Cri : CD-1(Swiss Hauchka)) mouse를 사용하였다. ICR mouse는 closed colony로써 生産된 것이다. 本 研究에서 사용한 ICR mouse는 日本에서 奇形試驗으로써 널리 사용되고 있는 動物이다. 本 研究의 飼育條件에 맞추기 위하여 購入 後 最低 일주간 飼育을 한 후에 實驗用으로 사용하였다. 本 實驗에서 交

配用으로 사용한 mouse의 年齡은 female mouse 9~13週, male mouse 9~15週이다⁷⁾.

2. 飼育條件

Conventional한 條件에서 飼育하였다. 飼育室은 明期 AM 6 : 00로부터 PM 6 : 00까지 light control 하였다. 飼育室溫度는 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 濕度는 60~65 %로 하였다. 飼料(CA-1) 및 물(top water)은 自由攝取시켰다¹⁾.

3. 交配方法

Female mouse의 sexual excitement period (發情期)에 놓인 mouse의 膺을 肉眼으로 觀察하여 male mouse와 AM 6 : 00~9 : 00까지 3時間만 mating시켰다. AM 9 : 00에 vaginal plug (膺栓)를 觀察하여 妊娠을 確認했다. Plug가 確認된 mouse는 AM 8 : 00에 conception(受精 : 精子가 卵子까지 도착할 수 있는 時間)한 것으로 하여 이 時期 妊娠 0일 0 : 00로 受精卵의 胎兒 年齡을 換算했다^{8~9)}.

4. 超音波 照射 方法

受精 成立 24, 48, 72(pre-implantation stage), 192(organogenesis stage) 時間 後(hpc : hours post conception)에 妊娠 mouse를 plastic製 特殊 cage에 넣어 腹部만 照射하였다. 超音波 發生 裝置는 水槽式 連續 超音波 發生 裝置를 사용하였다. 發振器의 面積은 $108\text{ cm}^2(8 \times 13.5)$, 發振 周波數는 1MHz이다. 本 研究에서 사용한 超音波 強度數는 각각 0.5, 1, 2 및 3 W/cm^2 群으로 하여 照射 時間을 10分間으로 하였다. 照射 時期의 group은 受精 24時間 後, 受精 48時間 後, 受精 72時間 後, 受精 192時間 後에 妊娠 mouse를 超音波用 照射 cage에 넣어 照射했다. 照射 中 물의 溫度는 $36 \sim 37^{\circ}\text{C}$ 로 一定하게 維持하였다. 또한 發振器에서 mouse 腹部까지의 距離는 13 cm로 하였다. Sham control로서는 恒溫槽에 10分間 處理한 群을 對照群으로 하였다.

1) 超音波強度와 音響率

本 研究에서 使用한 超音波 強度, 音響率, 照射 時間 등을 Table 1.에 나타내었다. 超音波強度는 0.5~3 W/cm²까지 行하였다.

5. 超音波 照射時間

母體 mouse의 照射 時間은 着床 前期 24 hpc, 48 hpc, 72 hpc와 期間形成期 192 hpc를 選定하였다. 24~72 hpc는 着床 前期로써 이 時期에 있어서는 Table 2의 項目에서 가르킨 것과 같이 Gu와 Streffer 等の 研究結果 이 時期의 受精卵 細胞數는 2~32個로 推定되어

Table 2의 note에 기재한 特徵을 가진다고 생각되기에 本 研究에서도 이 時期를 選擇하였다.

6. 統計學的 分析

各 group의 着床率과 子宮 內 死亡率 또는 奇形 發生率에 對해서는 各 母體에 의하여 發生率이 다르기 때문에 이와 같은 統計 處理에는 non parametric 方式에 의하여 1:1의 統計 分析에는 Willcoxon 檢定을 하였고 多群 檢定에 있어서는 Kruskal Wallis 檢定을 하여 分析했다. 胎兒 體重에 관해서는 正規分布에 따르

Table 1. Intensity, sound intensity rate and exposure time in this study.

Ultrasound	Intensity(W/cm ²)	Intensity Rate(W/min)	Exposure Time(min)
Control	0	0	0
Sham control	0	36~37 °C	10
Continuation	0.5	0.05	10
Ultrasound	1	0.1	10
	2	0.2	10
	3	0.3	10

Table 2. Classification of pre-implants from irradiated males mated at 24 hpc intervals after irradiation.

Group	No. of dam	Corpus luteum	No. of implantation (%)	Prenatal death No. (%)		Live fetuses	
				Embryos death rate	Fetuses death rate	No. (%)	Featal body Weight(g)
Control	45	619	607 (98.06)	45 (7.41)	1 (0.16)	561 (92.42)	M : 1.376±0.107 F : 1.330±0.096
Sham control	20	260	255 (98.07)	15 (5.88)	3 (1.17)	237 (92.94)	M : 1.373±0.095 F : 1.327±0.088
0.5 W/cm ²	21	388	345 (88.91)	45 (13.04)	2 (0.57)	298 (86.37)	M : 1.379±0.137 F : 1.333±0.130
1 W/cm ²	23	403	331 (82.13)	80 (24.16)	2 (0.60)	249 (75.22)	M : 1.362±0.132 F : 1.347±0.121
2 W/cm ²	26	408	303 (74.26)	90 (29.70)	2 (0.66)	211 (69.63)	M : 1.396±0.246 F : 1.334±0.120
3 W/cm ²	24	379	282 (74.40)	104 (36.87)	2 (0.70)	176 (62.41)	M : 1.361±0.131 F : 1.348±0.112

기 때문에 t-test 檢定을 하였다. 또한 個體 level의 影響인 着床率, 胎兒死亡, 外表 奇形の threshold dose 算定에 있어서는 SAS-Logistic 檢定下에서 統計 分析을 하였다. 5 % (LD5, ED5) 또는 10 % × 2/3值를 threshold dose로 判斷하였다^{1, 12~13}).

III. 研究結果

1. 着床前期(24, 48, 72 hpc) 및 器官形成期(192 hpc)의 胎兒死亡에 關한 影響

1) 着床前死亡(preimplantation death : 着床率)

Control群과 sham control群의 着床率에 비해 着床前期(24, 48, 72 hpc)와 器官形成期(192 hpc) 전 group에 대하여 0.5 W/cm²의 낮은 음강도에서도 統計學的인 有意差가 있었다(p<0.001).

또한 전 group에 대하여 超音波 強度가 증가함에 따라 dose response로 보였다. 각 시기에 대해서는 24 hpc가 가장 초음파 감수성이 높고 48>72>192 hpc순으로 저항성을 보였다.

이 연구 결과에 대해서는 24 hpc 즉 2細胞期가 가장 감수성이 높음으로 여기에서는 24 hpc의 data만 나타내었다.

2) 胎兒死亡(embryonic death)

24 hpc에 있어서는 control 群과 sham control 群의 胎兒 死亡率은 7.5 % 이하이나 0.5 W에서는 13.04%, 1 W에서는 24.16%, 2 W에서는 29.70%, 3 W에서는 36.87%이었다. 따라서 全 超音波 照射群에 있어서는 統計學的인 有意差가 明確했다(P<0.001). 또한 着床 前死亡과 같이 선량 의존성도 明確하였다. 胎兒死亡에 관해서는 Table 3과 Fig. 4에 나타내었다. SAS-Logistic model에 回歸시켜서 求한 胎兒 死亡率의 threshold dose를 Table 4에 나타내었다.

Table 3. Threshold doses of embryonic death in mouse irradiated at 24 hpc.

Exposure time(hpc)	Threshold dose	
	LD ₅	LD ₅ × 2/3
24	0.55 W/cm ²	0.55 W/cm ²

Table 4. Threshold doses of embryonic death in mouse irradiated at 48 hpc in preimplantation period.

Exposure time(hpc)	Threshold dose	
	LD ₅	LD ₅ × 2/3
48	0.34 W/cm ²	0.37 W/cm ²

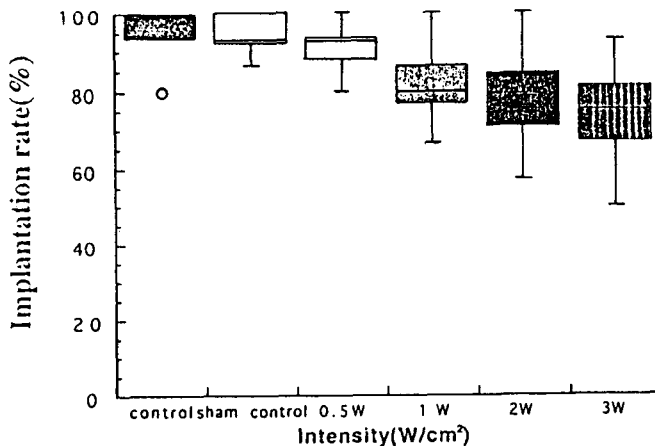


Fig. 1. Implantation rate of ICR mice irradiated at 24 hpc in the preimplantation period. The dose-dependence was detected with statistical significance (p<0.01) among all dose groups by Kruskal Wallis test.

48 hpc에 대해서는 control群에 sham control群을 超音波 0.5~3 W/cm²에 比較했을 때 明確하게 超音波 照射群에 있어서 統計學적인 有意差가 있었다(P<0.01). 또한 超音波 強度가 增加함에 따라 胎兒 死亡率도 急速히 增加함을 알 수 있다. 3 W/cm²에 있어서는 全體 着床數의 34.21 %가 胎兒 死亡을 일으켰다.

SAS-Logistic model로부터 구한 48 hpc의 胎兒 死亡率에 관한 threshold dose를 Table 5에 나타내었다.

Table 5. Threshold doses of embryonic death in mice irradiated at 72 hpc in preimplantation period.

Exposure time(hpc)	Threshold dose	
	LD ₅	LD ₅ × 2/3
72	0.55 W/cm ²	0.55 W/cm ²

72 hpc에 대해서는 control群과 sham control群에 比較해 超音波 照射群에 있어서 全體적으로 統計學적인 有意差가 있었다(P<0.01). 그러나 0.5 W/cm²에 대해서는 control群과 比較했을 때 有意差는 두드러지진 않았다. 胎兒 死亡 誘發率은 0.5 W/cm²에서는 12.5 %, 1 W/cm²에서는 24.84 %, 2 W/cm²에서는 29.62 %,

3 W/cm²에서는 34.26 %이었다. 더 상세하게는 Fig. 5에서 나타내었다. 또한 72 hpc에 있어서의 胎兒 死亡率의 threshold dose는 SAS-Logistic model로부터 구한 結果를 Table 6에 나타내었다.

Table 6. Threshold doses of embryonic death in mouse irradiated at 192 hpc in preimplantation period.

Exposure time(hpc)	Threshold dose	
	LD ₅	LD ₅ × 2/3
192	0.42 W/cm ²	0.45 W/cm ²

192 hpc에 대해서는 對照群에 비하여 초음파 조사군에 있어서는 明確히 統計學적인 有意差가 있었다(P<0.01). 이와 더불어 초음파 강도가 높아짐에 따라 그 影響도 커서 선량 의존성이 밝혀졌다. Control과 Sham control群에 있어서는 7.5% 以下임에도 불구하고 초음파조사군에 있어서는 0.5 W/cm²에서 11.07 %, 1 W/cm²에서 23.21 %, 2 W/cm²에서 39.72 %, 3 W/cm²에서 39.32 %이었다. 192 hpc에 있어서의 태아사망율에 대한 結果를 통계학적으로 SAS-Logistic model에 回歸시킨 結果 threshold dose를 구하여 Table 7에 示唆하였다.

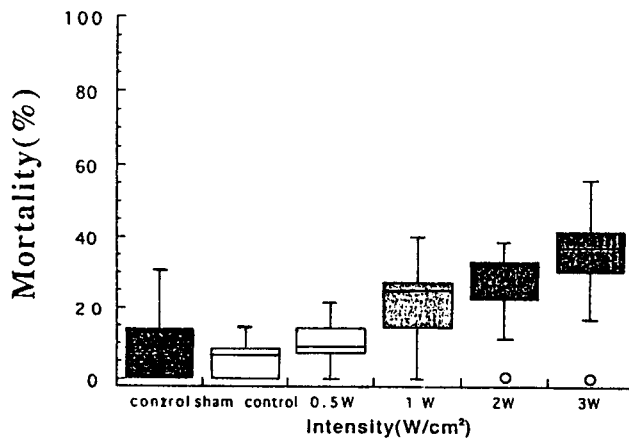


Fig. 2. Embryonic death of ICR mice irradiated at 24 hpc in the preimplantation period. The dose-dependence was detected with statistical significance(p<0.01) among all dose groups by Kruskal Wallis test.

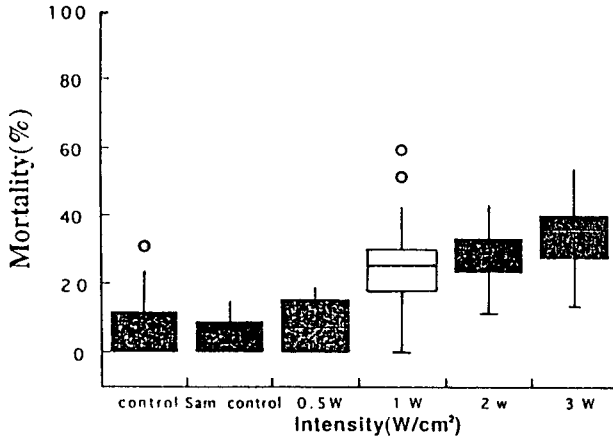


Fig. 3. Embryonic death of ICR mice irradiated at 72 hpc in the preimplantation period. The dose-dependence was detected with statistical significance ($p < 0.01$) among all dose groups by Kruskal Wallis test.

Table 7. Threshold dose of malformation after ultrasound-irradiation at 72 hpc in preimplantation period.

Exposure time(hpc)	Threshold dose	
	ED ₁	ED ₅
72	0.3 W/cm ²	0.5 W/cm ²

3) Fetal death

着床 前期의 초음파 조사군 및 기관형성기의 초음파 조사군에 대해서도 태아 체중감소에 대한 유의차는 없었다. 그러나 Willcoxon 검정에 의하면 약간 기관형성기가 착상전기보다 태아 체중에 대한 영향이 있었다.

1. 着床 前期(24, 48c, 72 hpc)의 奇形 誘發의 影響

1) 24 hpc(2 細胞期)의 奇形 誘發의 影響

受精 24時間 後에 있어서 超音波를 照射한 結果 奇形 誘發은 거의 없었다. Control群에서 確認된 開眼과 丘疹만이 보이고 物理學的 因子에 의한 結果 發生되는 奇形의 種類는 보이지 않았다.

2) 48 hpc(4~6 細胞期)의 奇形 誘發의 影響

48 pch에서도 24 pch와 같이 着床前, 桑實胚 前期로써 奇形에 대해서도 거의 같은 결과를 보였다. 또한 若干 丘疹의 誘發이 보이나 母體에 따라 크게 다르기에 超音波와 같은 非電離 放射線에 의해 일어나는가가 의문이다. 이에 대해서는 考察에서 상세히 記述하고자 한다.

3) 72 hpc(16~32 細胞期: 桑實胚 後期)의 奇形 誘發의 影響

이 時期는 着床 前期이나 compaction을 일으킨 後의 卵細胞로써 胚體로 되는 內部 細胞塊와 榮養外 胚葉이 分離되는 時期이다. 72 hpc에 조사한 照射群에 있어서는 control 群과 Sham control 群에서는 誘發하지 않는 外腦症, 口蓋裂, 無限球症, 尾異常 및 多趾 등의 많은 奇形이 確認되었다. 또한 기형은 0.5 W/cm²에서도 出現되어 1 W/cm² 이상의 群에서는 誘發度가 현저했다. 72 hpc의 奇形 結果를 Fig. 6에 示唆하였다.

奇形 發生率을 SAS-Logistic model에 回歸한 結果, threshold dose를 求하여 Table 8에 示唆하였다.

Table 8. Threshold dose of malformation after ultrasound irradiation at 192 hpc in organogenesis period.

Exposure time(hpc)	Threshold dose	
	ED ₁	ED ₅
192	0.2 W/cm ²	0.57 W/cm ²

4) 器官形成期(192 hpc : organogenesis)의 奇形誘發의 影響

Control 群과 Sham control 群에 있어서는 誘發하지 않는 外腦症(exencephly), 口蓋裂(cleft

palate), 無眼球症(anophthalmia), 腹壁破裂(abdominal hernia), 尾異常(anomalies tail) 등이 誘發함과 동시에 조사군에 있어서 顯疎하게 發生率이 높았다. 뿐만 아니라 초음파 강도에 따라 奇形 誘發率도 增加해 線量 依存性을 明確하게 드러났다. 특히 이 시기(8 dpc)는 神經官이 形成되는 시기이라 外腦症 또는 口蓋裂이 높았다. 본 研究 結果를 SAS-logistic model에 回歸시켜 threshold dose를 求하였다.

器官 形成期の 畸形 誘發 發生率에 관해서는 Fig. 7에 示唆하였다.

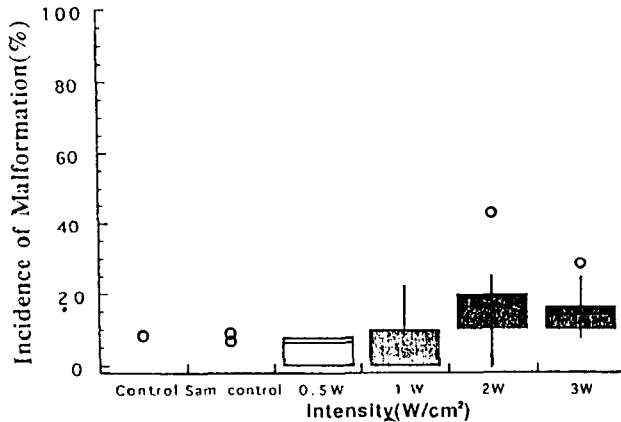


Fig. 4. The incidences of malformation in mouse exposed on 72 hpc in the preimplantation period. The dose-dependence was detected with statistical significance($p < 0.01$) among all dose groups by Kruskal Wallis test.

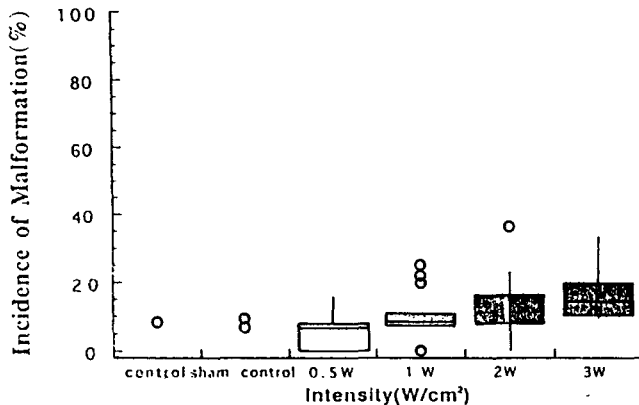


Fig. 5. The incidences of malformation in mouse exposed on 192 hpc in the preimplantation period. The dose-dependence was detected with statistical significance($p < 0.01$) among all dose groups by Kruskal Wallis test.

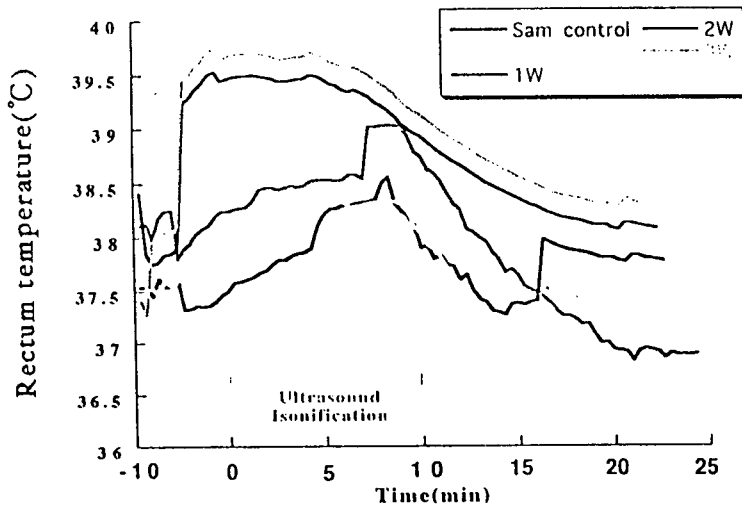


Fig. 6. Temperature variation of rectum in mice by treatment of ultrasound at each power intensity of W/cm^2 .

3. 着床前期(24, 48, 72 hpc)와 器官形成期(192 hpc : organogenesis)의 태아 체중의 영향

着床前期와 같이 器官形成期の 초음파 조사에도 태아에 대한 체중은 변함이 없다. 胎兒體重은 胎兒期에 영향을 입을 경우 가장 두드러지게 나타난다. 그러나 放射線과 같은 電離放射線에 의하여서는 器官形成期에도 胎兒體重減少가 顯著하게 일어나지만 초음파에 의하여서는 胎兒體重이 減少하지 않음을 본 연구로부터 明確해졌다.

4. 超音波 照射에 대한 妊娠 mouse의 體溫 上昇

Mouse의 體溫(直腸溫) 測定 結果에 관해서는 Fig. 8에 示唆하였다. $36 \pm 1^\circ C$ 恒溫水에 넣은 非照射群(Sham control)은 10分間 處理함에 따라 體溫이 $0.9^\circ C$ 上昇하였다. 超音波 照射群은 $0.5 W/cm^2$ 群에서는 $1^\circ C$, $1 W/cm^2$ 群에서는 $1.2^\circ C$, $2 W/cm^2$ 群에서는 $1.8^\circ C$, $3 W/cm^2$ 群에서는 $2^\circ C$ 上昇하였다. 어느 群에 있어서도 體溫 上昇은 $36 \pm 1^\circ C$ 恒溫水 中에 넣은 直後부터 上昇하였다. 浸水 後로부터 배출한 뒤 10分까지는 Sham control 群과 모든 조

사군에서는 측정 전보다 體溫가 減少하였다. 1時間 後의 體溫 變化는 모든 群에 있어서 測定前 體溫보다 體溫이 低下하는 傾向이었다. 이 結果로부터 超音波 強度가 上昇함에 따라 mouse의 若干 上昇함을 알 수 있다.

IV. 考 察

1. 着床前期(24, 48, 72 hpc)와 器官形成期(192 hpc)의 超音波 照射에 의한 胎兒 死亡 및 奇形 發生에 관한 特徵

1) 着床前 死亡(preimplantation death)

着床前 死亡(着床率)은 24 hpc가 매우 感수성이 높고 다음은 48 hpc group의 感수성이 높았으며 72 hpc에서도 影響이 보이나 器官形成期인 192 hpc에서는 $0.5 \sim 1 W/cm^2$ 까지는 거의 影響을 보이지 않으나 그 後의 초음파 強度에 의하여 조금 影響이 드러났다. 受精 24時間 後는 2細胞期로써 매우 感수성이 높고, 그 後 多細胞로 增殖함에 따라 着床前 死亡에 대하여 抵抗性を 보였다. Russell 등은 12~60 hpc의 胚死亡은 84~108 hpc보다도 感수성을 보였다고 하여 본 研究와 同一한 結果를 보였다³⁾. Lynn 등은 2~72 hpc에 放射線을 조사한 結果 着床前 死亡에 대하여 2 hpc(1細胞)가 매우

감수성이 높고 卵細胞 增殖에 따라 抵抗性を 보였다(14). 24 hpc는 第二細胞 分裂의 시기로서 細胞 週期 中에서도 가장 感受性이 높은 주기가 G2期~M期이다(15). 着床 前 死亡의 線量 依存性에 관해서는 着床 前期의 3群 모두가 線量 依存性を 보였으나 器官形成期(192 hpc)에서는 선량 의존성이 보이지 않았다. 24 hpc와 48 hpc는 8細胞期 以下로써 compaction이 일어나기 전이기 때문에 모든 세포가 하나 하나 전능성을 가진 세포이다. 이것을 보아도 compaction 前·後를 비롯해 胚死亡의 mechanism이 다르다고 생각할 수 있다. Threshold dose에 관해서도 24 hpc와 48 hpc에서는 0.5 W/cm² 정도임에도 불구하고 72 hpc 以後는 1 W/cm² hpc 以上이었다.

2) 胎兒 死亡(embryonic death)

着床痕, 胎盤遺殘, 吸收胚를 着床 後의 胎兒 死亡으로 分類하였다. 이와 같은 死亡은 수정 후 4.5일에서 13일 사이에 일어난 사망으로써 前期 死亡이라고 한다(16).

胎兒 死亡에 대한 초음파의 감수성은 着床 前期의 早期로부터 逆 順位로 感受性を 示唆하였다. 이와는 反對로 放射線을 이용한 실험에서는 4 細胞期보다도 1 細胞期가 더욱 더 감수성이 높다고 하였다(17). 그러나 이것은 1 細胞期와 比較하였으나, 1 cell은 細胞死에 의한 영향이라고 할 수 있으며, 櫟期死가 아니고 增殖死라고 할 수 있다. 초음파에 의한 間期死일 경우는 分裂하지 않고 直接的으로 死亡하는 것이며 增殖死는 몇번쯤 分裂을 하다가 죽어가는 死를 말한다. Ohze 등은 ♂ CDA/MK mouse와 ♀ dd/MK mouse의 F1을 사용하여 Rugh 등과 같은 연구를 했으나 control 群과 比較해 사망율은 증가하였으나 1 細胞期와 4 細胞期에서는 有意差는 보이지 않았다고 하였다(18). SAS-logistic 回歸 曲線으로부터 구한 초음파 조사군에 의한 胎兒 死亡의 threshold dose를 Table 9에 示唆하였다.

Threshold dose로부터 檢討하여도 compaction 期 직전이 매우 感受性이 높고 卵割이 活

Table 9. Threshold dose of embryonic death in mice irradiated at each stages during the preimplantation and organogenesis.

Exposure time(hpc)	Threshold dose	
	LD ₅	LD ₁₀ × 2/3
24	0.50 W/cm ²	0.55 W/cm ²
48	0.34 W/cm ²	0.37 W/cm ²
72	0.50 W/cm ²	0.55 W/cm ²
192	0.42 W/cm ²	0.45 W/cm ²

潑해짐에 따라 抵抗性を 일으킴을 알 수 있다. 着床 前期와 器官形成期를 比較했을 때 24 hpc와 72 hpc보다도 192 hpc가 더욱 더 감수성이 높다고 할 수 있다. 胎兒 死亡은 確定的인 영향이라고 볼 수 있으며, 胚를 구성하는 細胞의 一定 量의 細胞가 死亡하거나 變性を 일으켜서 發生한다고 볼 수 있다.

3) 胎兒 奇形(fetal malformation)

着床 前期에 있어서의 環境 要因에 대한 胎兒 奇形은 최근까지는 誘發하는 것이 아니고 胚死亡만이 일어난다고 하여 왔다(11,19). 그러나 최근 具然和의 논문에서 着床 前期에서도 胎兒 死亡 즉 流產만이 아니고 正常 胎兒로 태어나든가 生存해서 태어나는 태아 중에서도 奇形이 誘發하며 특히 時期 특이성을 가진다고 하였다(6). 또한 독일의 Muller 등은 Heiligenberger mouse를 사용하여 1 細胞~64 細胞期에 X-선을 조사하여 腹壁破裂, 外腦症 등을 관찰하였다(20).

이와 같이 文獻 檢索 결과로써도 着床 前期의 조사에 의하여 奇形이 誘發한다는 報告가 있으나 아직도 奇形學 또는 發生學 등에서는 否認하고 採用하지 않은 상태이다. 着床 前期의 시기에 다르게 發生하는 時期別 感受性에 관해서는 72 hpc가 奇形이 發生하나 compaction 前期 過程에서는 奇形이 誘發하지 않음을 본 研究로부터 明確하여졌다. 다음은 着床 前期(72 hpc)와 器官形成期の threshold dose에 관하여 比較하였다.

Table 10. Threshold dose of malformation after ultrasound irradiated each stages during the preimplantation and organogenesis period.

Exposure time(hpc)	Threshold dose	
	ED ₁	ED ₅
72	0.30 W/cm ²	0.50 W/cm ²
192	0.20 W/cm ²	0.57 W/cm ²

본 연구 결과로 보았을 때 threshold dose에 관해서는 器官形成期보다 着床 前期가 感受性이 높음을 알 수 있다.

4) 胎兒 體重의 影響

胎兒 體重的 超音波 등의 影響을 把握하기 위한 指標로써 重要하기 때문에 많은 研究者들에 의하여 지적되고 있는 상태이다. 超音波에 의한 着床前期 및 器官形成期에 있어서의 胎兒 體重 減少는 현저하지 않다. 先行 研究에서 具 등의 研究에 있어서도 超音波 照射 結果 胎兒 體重的 減少는 볼 수 없었다고 하였다²¹⁾. 또한 Barnett 등의 研究 結果로부터도 體重 減少는 없었다고 하였다. 그들은 swiss QS mouse를 사용해 超音波 0.5~5.5 W/cm²에서 3分間 照射 하였으나 體重 減少는 볼 수가 없었다. 그러나 mouse strain에 따라서는 體重 減少도 있을 수 있다고 지적하였다²²⁾.

着床 前期에 있어서의 體重 減少는 있을 수 없으며, 있다고 하더라도 직접적인 影響이 아니고 間接적으로 超音波에 의한 母體의 子宮 環境에 의한 影響이라 할 수 있다.

V. 結 論

實驗動物(ICR mouse)을 使用하여 着床 前期 및 器官形成期에 있어서 超音波의 照射結果 影響에 관하여 다음의 結果를 얻었다.

1. 着床前 死亡(preimplantation death) (着床率)에 대한 影響

着床前 死亡에 대해서는 着床 前期에 超音波 照射한 24, 48, 72 hpc의 全 group에 대하여

有意한 減少가 확인되었다(P<0.01). 그러나 器官形成期에 대해서는 2 W/cm² 以上에서 若干 減少率이 드러났다. 24, 48, 72 hpc에 있어서 着床率에 대한 intensity 依存性이 確認되었다.

2. 胎兒 死亡率(embryonic death)에 對한 影響

Control 群과 Sham control 群에 比하여 24, 72, 192 hpc 全 group의 全선량 群에 對하여 統計學的인 有意差가 있었다(P<0.01). 또한 強度 依存性도 明確했다.

Threshold dose에 대해서는 24 hpc에서 0.5 W/cm², 48 hpc에서 0.34 W/cm², 72 hpc에서 0.5 W/cm², 192 hpc에서 0.42 W/cm²이었다.

3. 胎兒 死亡 및 胎兒體重

4 group의 全 照射 強度에 대해서도 胎兒 死亡 및 胎兒 體重的 有意差는 없었다.

4. 奇形 誘發에 대한 影響

72 hpc와 192 hpc에 있어서 超音波 照射 全 群에 대하여 control群과 sham control群에서 볼 수 없는 外腦症, 口蓋裂, 無限球症, 尾異常, 腹壁破裂 등이 確認되었다. 勿論 統計學的인 有意差도 認定되었다.

Threshold dose는 72 hpc에서 0.5 W/cm²이었고, 192 hpc에서 0.57 W/cm²이었다. 이와 같이 着床 前期와 器官形成期을 比較해 보았을 때 着床 前期가 器官形成期보다 더 感受性이 높음을 알 수 있다. 그러나 發生率에 비했을 때 192 hpc가 72 hpc보다 더 높다는 것을 本 研究로부터 明確해졌다.

超音波에 의한 胎兒影響은 溫熱效果라고 볼 수 있다. 종래까지는 超音波의 mechanism으로써 溫熱效果인지, cavitation 效果인지 論難이 있었다. 그러나 本 研究로부터 明確히 熱效果란 것을 밝혔다. 超音波의 熱效果는 單獨적으로 일어나는 것이 아니고 cavitation 發生 후 二

次的으로 일어나는 産物이라고 하겠다. 最近 여러 學者들은 이런 學說을 말하고 있다. 이와 같은 超音波의 溫熱效果에 의해 胚死亡 및 奇形이 誘發한다고 생각할 수 있다.

胚死亡의 原因으로써는 細胞數 以外에 compaction에 關係하는 細胞의 極性出現, 細胞接着 因子인 E-cadherin, 糖鎖과 糖轉移酵素($\beta 1$, 4-Gal Tase) 또는 糖鎖과의 結合 등에도 더욱 더 檢討할 必要가 있다.

奇形誘發의 原因으로써 위에서 말한 것도 關係하지만 特定細胞의 細胞死 및 DNA level의 損傷도 檢討할 必要가 있다.

종래까지는 着床 前期에 있어서는 流産뿐이고 奇形은 誘發하지 않는다는 說이 본 研究로부터 超音波 照射에서도 明確히 發生한다는 것을 밝혔다. 또한 器官形成期보다는 着床前期가 感受性이 높다는 것을 밝혔다. 1977년 ICRP 勸告에 의하면 『10-day-rule』을 실시할 必要가 있다고 하여 勸告하였지만 그후 1983년 워싱턴 聲名에서 10 day rule의 폐지론이 나왔다.

本 研究 結果 超音波에 대해서도 着床 前期에 奇形이 誘發함으로 10 day rule을 지킬 必要가 있다고 생각한다. 着床 前期 및 早期 器官形成期는 妊婦가 妊娠 여부를 모르는 시기이기에 상당히 중요한 시기이기도 하다. 이와 같이 超音波에 대하여 보다 安全하게 使用되어 診療過誤 없이 診斷에 使用되어야 할 것이다. 현재 使用되고 있는 超音波 診斷領域은 1~10 mW/cm²이며 또한 連續波가 아니고 pulse波이어서 安全하다. 治療用 超音波는 1 W/cm² 이상이어서 絶대로 妊婦腹部에 照射는 禁해야 할 것이다.

參 考 文 獻

1. 具然和(Gu.Y.), (1991) ICR 마우스의 胎兒에 對する放射線と超音波의 共同效果에 關する 實驗的 檢討; 東京大學醫學部 修士論文.
2. Russell. L.B and Russell. W.L.(1950) The effect of radiation on the preimplantation stages of the mouse embryo. Anat. Res, 108, 521.
3. Russell. L. B and Russell. W. L.(1954) An analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. J. Cell. Physiol, 43, 103-149.
4. Rugh. R and Grupp. E. (1961) Effects of low-level X-irradiation on the fertilized egg of the mammal. EXptl. Cell. Res, 25, 302-310.
5. Rugh. R.(1968) The mouse, Its reproductive and development. Burgess publishing company, Minneapolis.
6. 具然和(Gu.Y.), (1995) ICR 마우스의 着床 前期 胎兒에 對する放射線 影響의 研究; 東京大學醫學部 博士論文.
7. 松岡 理(Matuoaka. L.), 小林定喜(Kobayasi. S.), (1978) 動物種差と 外挿, ソフトサイエンス社.
8. Molls. M., Streffer. C and Zamboglou. N. (198) Micronucleus formation in preimplantated mouse embryos cultured in vitro after irradiation with X-rays and neutrons, Int. J. Radiation Biol., 39, 307-314.
9. Muller. W.U. and Streffer. C.(1984) Distribution of micronuclei among single cells of preimplantation mouse embryos after X-irradiation in vitro. Mutation Research, 125, 65-70.
10. Muller. W. U.(1989) Toxicity of various combinations of X-rays, caffeine, and mercury in mouse embryos. INT.J.Radiat. Biol. VOL. 56, NO.3, 315-323.
11. UNSCAER 1977 年報報告(1978): 放射線線源의 影響, 아이·एस·유.
12. Wilson.J.G. et al (1979)a General principles and etiology. Handbook Teratology. Volum 1, Plenum. Press.
13. Wilson. J.G. et al (1979)b Mechanisms and pathogenesis. Handbook Teratology. Volum 2, Plenum. Press.
14. Lynn. M.(1994) Radiosensitive target in the early mouse embryo exposed to very low doses of ionizing radiation. Mutation

- Research. 309 (1994) 83–92.
15. Hogan. B. et al(1968) Sequence and regulation of morphological and molecular events during the first cell cycle of mouse embryogenesis. *J. Embryol. Exp. Morphol*, 87, 175–206.
 16. Muller. W. U. and Streffer. C. (1990) Lethal and teratogenic effects after exposure to X-rays at various times of early murine gestation. *Teratology*, 42, 643–650.
 17. Rugh. R. et al. (1964) Cataract development after embryonic and fetal X-irradiation. *Radiation Research*, 22, 519–534.
 18. Ohzu. E.(1965) Effects of low-dose x-irradiation on early mouse embryos. *Radiation Research*, 26, 107–113.
 19. NCRP(1983) Biological effects of ultrasound mechanisms and clinical implication. NCRP Report, 74.
 20. Muller. W. U., Streffer. C and Pampfer. S.(1994) The question of threshold doses for radiation damage : malformation induced by radiation exposure of unicellular or multicellular preimplantation stages of the mouse. *Radiat. Environ. Biophys*, 33, 63–68.
 21. Gu, Y and Kusama, T.(1992) Combined effects of radiation and ultrasound on embryonic development in ICR mice. *J. Radiat. Res.*, 33 : 67.
 22. Barnectand. S. B.(1990) Identification of the mechanisms responsible for fetal weight reduction in mice following ultrasound exposure. *Ultrasonics*, vol. 28, May. (1990).