

마우스 소뇌과립층의 apoptosis를 지표로 한 진단용 초음파의 안전성 검증

오 현 · 이송은 · 양정아 · 조성기* · 정치영 · 손창호 · 김성호

전남대학교 수의과대학 수의학과
한국원자력연구소 식품조사팀*
(1999년 4월 16일 접수)

The evaluation on the biological safety of diagnostic ultrasound using radiation-induced apoptosis in the external granular layer of mouse cerebellum

Heon Oh, Song-eun Lee, Jung-ah Yang, Sung-kee Jo*, Chi-young Chung,
Chang-ho Son, Sung-ho Kim

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University
Department of Food Irradiation, KAERI*

(Received Apr 16, 1999)

Abstract : We have studied, by a nonisotopic *in situ* end-labeling(ISEL) technique, frequency of apoptosis in the external granular layer(EGL) of the cerebellum of immature mice by γ -rays irradiation from ^{60}Co or diagnostic ultrasound exposure. The total number of normal cells and cells showing morphological features of apoptosis were counted. The frequency of apoptotic cells was expressed as a percentage of the total number of cells in EGL. The extent of changes following 200 cGy(1090 cGy/min) was studied at 2, 4, 6, 8, 12, or 24 hours after exposure. The maximal frequency was found 6~8 hours after exposure. The immature mice that received 18, 36, 54, 108, 198, 396 cGy of γ -rays or diagnostic ultrasound(7.5MHz, 4.2mW, $I_{\text{SPTA}} = 7.9\text{mW/cm}^2$, $I_{\text{SPPA}} = 114.3\text{W/cm}^2$) for 10 or 30 minutes were examined 6 hours after irradiation. Measurements performed after γ -ray irradiation showed a dose-related increase in apoptotic cells in each of the mice studied. The dose-response curves were analyzed by a linear-quadratic model; frequency of apoptotic cell in the EGL was $y = (0.1349 \pm 0.01175)D + (-0.0001522 \pm 0.0000334)D^2 + 0.048$ ($r^2 = 0.981$, $D = \text{dose in cGy}$). In the experiment of ultrasound exposure, the frequency of apoptotic cell was 0.106 ± 0.130 (10 minutes exposure) and 0.167 ± 0.220 (30 minutes exposure). We estimated the relative dose of the yield from the experiment with ultrasound by substituting the yield from ultrasound exposure into the curve from the γ -irradiation. The relative dose of ultrasound exposure

본 연구는 '98 전남대학교 학술연구비 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

Address reprint requests to Dr. Sung-ho Kim, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Puk-ku, Kwangju 500-757, Republic of Korea.

compared with γ -irradiation were 0.432 cGy(10 minutes exposure) and 0.885 cGy(30 minutes exposure). We have found that there is no evidence to indicate that diagnostic ultrasound involves a significant risk.

Key words : irradiation, diagnostic ultrasound, apoptosis, external granular layer(EGL).

서 론

방사선의 생물학적 효과측정의 조건으로는 피폭량에 따른 반응의 일치(dose-dependence)와 방사선에 대해 특이적인 반응을 보여 효과측정이 용이하여야 하며 피폭 후 빠른 결과의 산출, 부분피폭의 검출과 피폭후 피폭효과와의 지속성, 만성피폭과 분할피폭의 적용성 및 다양한 선질에 대하여 모두 측정 가능하여야 한다. 그러나 현재 위의 조건을 모두 만족시킬 수 있는 지표는 없으나 개인용 계측기를 이용한 물리적 측정방법의 문제점을 보완하기 위하여 생물학적 효과 측정법이 중요시 되고 있다¹.

생체에서 시행할 수 있는 생물학적 선량측정의 방법으로는 electron spin resonance², 생화학적 지표^{3,4} 등 분자수준, 염색체 분석법⁵⁻⁸, 미소해 분석법^{9,10}, 체모^{11,12} 등 세포 유전학적 수준 그리고 조혈계¹³, 정자발생¹⁴ 등 세포수준의 변화 등 크게 3가지로 나눌 수 있으며 각각의 방법에 따라 장단점이 있다. 생물학적 측정의 가장 큰 약점은 저선량의 측정이 용이하지 않다는 점이다. 따라서 100 cGy 이하의 저선량에서도 민감한 반응을 보이고 실험측정이 간편한 생물학적 측정방법을 마련하는 것이 요구된다.

Apoptosis는 1970년 Okada¹⁵에 의해 처음 정의되었으며 생체내 생리학적 조절에 의해 세포가 자연소멸되는 현상으로 장점막상피나 샘조직세포, 림프기관의 종자중심과 같은 정상조직에서 발견된다. 또한 태생기 발생 및 변태과정, 임신분만의 자궁과 젖샘세포에서와 같은 내분비 호르몬 작용에 의해 장기의 위축과 비대가 일어나는 조직 및 종양조직에서 관찰할 수 있다. 이는 생리적 또는 화학적 자극에 의해 일어나는 괴사와 구별되며 형태학적으로 세포벽의 공포화, 세포질과 핵의 농축 및 apoptotic body가 관찰되고 여러가지 생화학적 변화가 나타난다¹⁶.

방사선에 의한 apoptosis 유도는 potten에 의해 소장암 세포에서 감수성이 있음이 최초 보고되었으며¹⁷ 미성숙 소뇌 과립층(external granular layer; EGL)¹⁸⁻²⁰과 홍선²¹ 및 림프구²² 등의 보고가 있으며 외국의 경우 치료방사선과 영역에서 방사선과 apoptosis의 관계가 활발히 연구되고 있으며 최근 방사선에 의한 apoptosis를 조절하는 물질의 효과를 보고하기도 하였다²³.

최근 초음파는 보편적인 진단기로서 임신의 전기간에 걸쳐 배(embryo)나 태아의 성장 및 발달을 관찰하는 등 그 사용범위가 넓다. 그럼에도 불구하고 진단용 초음파 노출에 수반되는 생물학적 장애에 따른 연구가 미미하여 초음파가 발생중인 태아에 미치는 단기 및 장기 유해효과에 대한 연구가 필요하다²⁴.

실험동물을 이용한 보고에서는 자궁내 고강도(high intensity) 초음파 노출시 태아체중 감소²⁵, 기형발생 증가^{26,27} 등이 나타나 발육중인 태아에 대해 유해한 효과가 나타날 가능성이 제기되었다. 또한 Hande 및 Uma Devi²⁸와 Uma Devi *et al*²⁹은 태아기에 진단용 초음파에 노출된 마우스에서 운동이나 탐색능 저하 등을 보고하여 행동발달에 대한 장애유발 가능성을 시사하였으며 사람에게 대한 초음파 장애 역학조사에서 출생시 체중미달이 보고되기도 하였다³⁰.

본 연구는 소뇌 과립층에서의 apoptosis를 지표로 방사선의 생물학적 효과를 형태학적으로 관찰하였고 저선량 방사선의 생물학적 효과측정 가능성을 확인하고자 하였으며 진단용 초음파를 소뇌 과립층 세포의 apoptosis를 이용한 생물학적 반응시험에 적용하여 γ 선에 대한 비교 추정선량을 도출함으로써 진단용 초음파의 안전성에 관한 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물 : ICR 마우스를 사용하였다. γ 선 조사실험은

분만직후 마우스를 공시하였고 초음파 노출실험은 분만 직전 모체를 적용하였다.

γ선 조사군 : γ선 조사는 실험군당 6마리의 마우스를 사용하였으며 실험용 방사선 조사기(Gammacell 3000 Elan, Nordion International Co. Canada)를 이용하여 ⁶⁰Co γ선을 분당 1090 cGy의 선량률로 200 cGy 조사하고 조사후 시간경과(2, 4, 6, 8, 12, 24시간)에 따른 apoptotic cell의 발생변화를 관찰하여 최다형성 시간을 산출한 후 단계별 저선량 및 고선량 방사선(18, 36, 54, 108, 198, 396 cGy)을 각 1회 전신 조사하였다.

초음파 노출군 : 초음파 노출은 진단용 초음파기기(7.5 MHz, 4.2mW, I_{SPTA} = 7.9mW/cm², I_{SPPA} = 114.3W/cm², MEDISON, Korea)를 사용하였으며 복부전체에 조사할 수 있는 탐촉자를 이용하였다. 임신 마우스를 소동물 보정틀에 보정하여 초음파진단용 젤을 바른 다음 복부에 10 및 30분간 노출하였다. 초음파 노출동안 마우스의 체온변화를 관찰하기 위하여 직장내의 온도를 측정하였으며 초음파 노출에 대한 정확한 반응을 산출하기 위해 조사면 측의 자궁내 마우스만을 4마리씩 사용하였다.

조직표본 제작 : γ선 조사 및 초음파 노출후 각 실험군의 마우스를 희생시켜 소뇌를 적출하여 Carnoy 고정액에 1시간 고정을 한 후 포매시까지 70% ethanol에 보관하였다. 통상적인 방법에 의해 파라핀으로 포매한 조직은 3~4μm 두께로 절편을 제작하여 hematoxylin-eosin 염색을 하였고 DNA fragments 측정을 위하여 *in situ* end labelling(ISEL)^{31,32}을 실시하였다. 이는 표본 슬라이드에 terminal deoxynucleotidyl transferase를 가하여 DNA fragment(3'-OH ends)에 digoxigenin-nucleotides 잔기를 부착시키고 anti-digoxigenin-peroxidase를 처리한 다음 통상적인 diaminobenzidine(Sigma Chemical Co.) 염색법으로 발색하였다.

검 경 : 소뇌 과립층 전체세포당 apoptotic cell의 백분율로 산출하였다.

통계분석 : 각 γ선 조사선량에 따라 측정된 apoptotic cell 발생의 평균값은 Graph PAD In Plot(GPIP, Graph PAD software Inc., Sandiego) program을 이용, linear-quadratic model($y = aD + bD^2 + c$)에 적용하여 γ선 조사군의 선량-반응곡선을 구하였으며 y는 소장음당 apoptotic cell의 수, D는 방사선량(cGy)을 나타낸다. 위 식을 방사선량 D를 기준으로 구성하면 $D = \frac{-a \pm \sqrt{a^2 - 4b(c - y)}}{2b}$ 의 식을 얻을 수 있으며 초음파 노출군의 소뇌 과립층 세포

중 apoptotic cell의 백분율치를 적용하여 생물학적 반응을 γ선 피폭의 경우와 비교하여 추정 피폭선량을 산출하였다.

결 과

Apoptotic cell은 H-E 염색상에서 세포질과 핵염색질의 농축, 핵 파편 및 특징적인 세포질의 산호성을 나타냈으며 ISEL 염색에서 양성세포로 관찰되었다(Fig 1, 2).

Fig 1. External granular layer(EGL) of cerebellum of mice 6 hours after exposure to γ-radiation. Cells exhibiting pyknosis of nuclei(arrow) are seen. H-E. staining, × 330.

Fig 2. *In situ* and labelling(ISEL) demonstrating apoptotic nuclei and bodies in the external granular layer of cerebellum. ISEL, chromogen diaminobenzidine, hematoxylin counterstaining, × 66.

γ선 조사군 : 소뇌 과립층 세포에서의 발생률은 정상 대조군의 경우 0.048%의 낮은 수치를 보였으며 방사선 조사후 6~8시간에 23.675~37.318%로 최고치를 나타냈다

Table 1. Apoptosis frequency in the external granular layer (EGL) of cerebellum as a function of time after acute exposure to 2 Gy of γ -radiation

Post irradiation time	Apoptosis(%)
2hrs	0.108±0.149
4hrs	7.323±1.969
6hrs	23.675±2.079
8hrs	37.318±12.259
12hrs	21.6±3.784
24hrs	7.638±2.305

Mean value of 6 fetuses per group±SD.

(Table 1). γ 선 조사용량별 변화는 표준편차가 적은 방사선 조사후 6시간에 관찰하였으며 조사선량별 발생률은 Table 2와 같이 조사선량에 비례하여 증가하였다.

Table 2. Incidence of cell death by apoptosis in the external granular layer(EGL) of cerebellum following γ -irradiation

Dose(cGy)	Apoptosis(%)
0	0.048±0.088
18	4.547±0.964
36	6.026±1.560
54	7.148±0.626
108	10.474±1.255
198	21.743±2.507
396	29.521±4.803

Mean value of 6 fetuses per group±SD.

평균치를 linear-quadratic model에 적용하면 용량-반응의 관계식은 소뇌 과립층 세포의 경우 $y = (0.1349 \pm 0.01175)D + (-0.0001522 \pm 0.0000334)D^2 + 0.048$ ($r^2 = 0.981$, y = 전체 소뇌 과립층 세포중 apoptotic cell의 백분율, D = 방사선량 cGy)이었다.

초음파 노출군: 진단용 초음파에 의한 apoptotic cell의 발생은 10분간 노출한 군의 평균치는 $0.106 \pm 0.130\%$, 30분 노출군에서는 $0.167 \pm 0.220\%$ 였으며(Table 3) 직장내 온도측정 결과 정상대조군에 비하여 초음파 노출군에서 체온의 상승은 없었다. 진단용 초음파 노출군의

Table 3. Incidence of cell death by apoptosis in the external granular layer(EGL) of cerebellum following ultrasound

Group	Apoptotic cell (%)	Relative dose to γ irradiation
Control (n = 12)	0.031±0.077	-
10 mins (n = 28)	0.106±0.130	0.432 cGy
30 mins (n = 24)	0.167±0.220	0.885 cGy

Mean value±SD.

apoptosis 발생 평균값을 γ 선 조사군의 선량-반응곡선인 $D = \{-a \pm \sqrt{a^2 - 4b(c-y)}\} / 2b$ 에 적용하면 γ 선 조사에 해당되는 추정선량은 10분 노출군은 0.432 cGy, 30분 노출군은 0.885 cGy에 해당되었다.

고 찰

Apoptosis에 의한 세포사는 방사선 장애의 급성효과 결과로서 인식되고 있으며 특히 증식성이 강한 세포에서 쉽게 나타난다. 그러나 인체를 포함하여 신생동물에 대한 방사선 장애의 측정방법은 거의 없는 실정이다. 임신동물을 사용한 최기형성 시험을 비롯한 생식시험은 배자기, 착상기, 장기형성기 등에서의 장애를 관찰하는 것으로 임신말기 태아 및 신생자에 대한 방사선의 영향, 특히 급성효과 및 저선량 방사선의 효과를 판별할 수 있는 생물학적 방법의 도출이 절실하다.

신생개체에 방사선에 의한 apoptosis의 발생은 소뇌 과립층 세포¹⁸⁻²⁰ 및 신장에서 방사선에 의한 apoptosis의 발생³³이 보고되고 있으며 고환 지지세포에서의 apoptosis 발생은 랫트에서 보고³⁴된 바 있다. 발생중인 신경계의 경우 태어나 미성숙개체에서 많은 세포사가 관찰되며^{35,36} 저선량 방사선에 민감한 것으로 알려져 있다³⁷. 특히 소뇌 과립층은 방사선에 민감함이 알려졌으며^{37,38} Altman *et al*³⁹은 미성숙 소뇌 과립층에서 방사선 조사 후 pyknotic cell이 나타남을 관찰하고 이를 괴사에 의한 세포사로 보고하였다. 그러나 세포사가 형태, 발생기전 그리고 생물학적으로 괴사와 다른 apoptosis가 보고^{40,41}된 후 Harmon과 Allan¹⁸이 전자현미경적 연구를 수행하여 방사선 조사 후 소뇌 과립층에서 발견되는 pyknotic cell이 괴사가 아닌 apoptosis에 의한 세포사임을 보고하였다.

고강도 초음파의 태아에 대한 장애효과는 Stolzenberg

et al⁴²의 보고에 의하면 모체의 체온을 상승시켜 모체의 조직이나 기능을 변화시켜 태아에 간접적으로 영향을 미친다고 하였고 Barnett와 Williams⁴³도 초음파 노출후 태아의 장애는 maternal distress와 체온상승에 기인한다고 보고하였으며 Brent et al⁴⁴ 또한 초음파 노출시 태아의 온도가 39°C를 넘지 않으면 초음파에 의한 태아의 장애효과는 없다고 하였다.

고강도 초음파에 비하여 진단용 초음파는 인체는 물론 동물의 임신진단용 기기로 널리 사용되고 있으며 대부분의 연구자에 의해 안전성이 알려져 있으나 1990년대에 들어 Hande와 Uma Devi²⁸가 마우스 태아 발달단계에 있어서 초음파의 노출에 의한 장애효과의 가능성을 제시하였으며 Uma Devi et al²⁹은 태아기 초기에 노출될 경우 성숙후 뇌 기능장애를 나타낼 수 있다는 보고를 하였다.

본 연구에서 초음파에 유도된 apoptotic cell 평균치를 γ 선 조사선량 반응식에 적용하여 산출된 비교용량은 초음파 10분 노출은 0.432 cGy, 30분 노출은 0.885 cGy에 해당되었다. 고강도 초음파의 온열효과와 관련하여 진단용 초음파 노출시 예상되는 체온상승을 확인한 바 체온의 변화는 없었다. 따라서 본 연구결과는 온열효과와는 무관하다고 사료된다.

Brent의 연구⁴⁵에 의하면 태아와 관련된 자연발생 위험도는 조기유산 15%, 유전적 질병 8~10%, 자궁내 성장지연 4%, 기형발생 2.7~3.0%로 알려져 있으며 방사선 1 cGy 노출시 최대 장애발생률은 0.003% 이다. 따라서 본 연구에서 확인된 γ 선과 비교한 초음파의 추정선량은 자연발생 기형률 보다 1000배 이상 낮은 효과를 나타내는 방사선 피폭량으로 생물학적으로 안전한 것으로 사료되었다.

진단용 초음파의 경우 기타 방사선학적 진단기기에 비해 비교적 안전하나 태아와 같은 장애발생에 민감한 대상에 대한 노출 등의 경우, 보다 신중한 사용이 요구된다.

본 연구에서 저선량 방사선에 의한 생물학적 반응의 지표로서 apoptosis의 적용가능성을 확인하였으며 이는 저선량 방사선에 대한 생체반응 조절물질의 연구 등을 위한 자료가 될 것이다.

결 론

소뇌 과립층에서의 apoptosis를 지표로 방사선의 생물

학적 효과를 형태학적으로 관찰하여 저선량 방사선의 생물학적 효과 측정가능성을 확인하고 진단용 초음파를 소뇌 과립층 세포의 apoptosis를 이용한 생물학적 반응시험에 적용하여 γ 선에 대한 비교 추정선량을 도출함으로써 진단용 초음파의 안전성에 관한 자료를 제공하기 위해 미성숙 마우스의 소뇌에서 방사선에 의해 유도되는 apoptosis의 발생양상을 관찰하였다.

ICR 마우스를 사용하여 200 cGy의 γ 선을 조사하고 조사후 시간경과에 따른 소뇌 과립층의 apoptotic cell의 발생변화를 관찰, 최다 생성시간을 산출하였으며 7단계의 저선량 및 고선량 방사선(18, 36, 54, 108, 198, 396 cGy)을 각 1회 전신조사하였다. 초음파에 의한 변화는 초음파진단기를 이용 10분, 30분간 임신 마우스 복부에 노출시켰다. 소뇌를 채취하여 Carnoy 고정후 hematoxylin-eosin 염색 및 *in situ* end labelling(ISEL)을 실시하여 검경하였다. γ 선 조사군의 소뇌 과립층의 apoptotic cell은 6~8시간에서 최고치를 나타낸 후 감소하였으며 조사선량에 비례하여 증가되었다. 각 조사선량에 따라 측정된 apoptotic cell의 평균값을 적용하면 γ 선 조사군의 선량-반응 곡선은 $y = (0.1349 \pm 0.01175)D + (-0.0001522 \pm 0.0000334)D^2 + 0.048$ ($r^2 = 0.981$, $y =$ 전체 소뇌 과립층 세포중 apoptotic cell의 백분률, $D =$ 방사선량 cGy)로서 소뇌과립층에서의 apoptosis는 저선량 방사선 조사에도 민감도가 높았다. 초음파 노출군의 소뇌 과립층의 apoptotic cell의 평균치는 10분 노출군은 $0.106 \pm 0.130\%$, 30분 노출군은 $0.167 \pm 0.220\%$ 였으며 γ 선 피폭의 경우와 비교하여 추정 피폭선량을 산출한 바 γ 선 조사에 해당되는 추정선량은 각각 0.432 cGy, 0.885 cGy로서 생물학적으로 안전함을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Muller WU, Streffer C. Biological indicators for radiation damage. *Int J Radiat Biol*, 59:863-873, 1991.
2. Mascarenhas S, Hasegawa A, Takeshita K. EPR dosimetry of bones from the Hiroshima A-bomb site. *Bulletin of the American Physical Society*. 18:579, 1973.
3. Kaul A, Dehos A, Bogl W, et al. Biological indicators for radiation dose assessment, bga Schriften 2/86(MMW Medizin Verlag, Munich), 1986.

4. UNSCEAR, report. Sources and effect of ionizing radiation, Annex G, Early effects in man of high dose of radiation, chapter III : Prognostic indicators and biological dosimetry. United Nation, New York, 583-612, 1989.
5. Scott D, Lyons CY. Homogeneous sensitivity of human peripheral blood lymphocytes to radiation-induced chromosome damage. *Nature*, 278(19): 756-758, 1979.
6. Klingerman AD, Halperin EC, Erexson GL, *et al.* The persistence of lymphocytes with dicentric chromosomes following whole-body X-irradiation of mice. *Radiat Res*, 124:22-27, 1990.
7. IAEA technical report series no. 260. Biological dosimetry : Chromosomal aberration analysis for dose assessment. IAEA, Vienna, 1986.
8. 김성호, 김태환, 정인용 등. KCCH cyclotron neutron 및 ⁶⁰Co γ-ray에 의한 인체 말초혈액 임파구의 염색체 이상 측정. 대한방사선방어학회지, 17:21-30, 1992.
9. Almassy Z, Krepinsky AB, Bianci A, *et al.* The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review. *Int J Rad Appl Instrum A*, 38:241-249, 1987.
10. Kim SH, Cho CK, Kim TH, *et al.* Frequency of micronuclei in lymphocytes following gamma and fast-neutron irradiations. *Anticancer Res*, 13:1587-1592, 1993.
11. Geng L, Potten CS. Changes after irradiation in the number of mitotic cells and apoptotic fragments in growing mouse hair follicles and in the width of their hairs. *Radiat Res*, 123:75-81, 1990.
12. Kim TH, Kim SH, Lee YS, *et al.* Measurement of apoptotic fragments in growing hair follicles following γ-ray irradiation in mice. *Anticancer Res*, 16:189-192, 1996.
13. Fliedner TM, Nothdurft W, Steinbach KH. Blood cell changes after radiation exposure as an indicator for hemopoietic stem cell function. *Bone Marrow Transplant*, 3:77-84, 1988.
14. Hacker-Klom U, Gohde W, Schumann J. Mammalian spermatogenesis as a biological dosimeter for ionizing radiation, Biological Dosimetry, edited by WG Eisert and ML Mendelsohn(Springer Verlag, Berlin), 127-137, 1984.
15. Okada S. Radiation-induced cell death. Radiation Biochemistry, Vol. 1. Edited by : Altman KI, Gerber GG and Okada S(New York, Academic), 247-307, 1970.
16. Hale AJ, Smith CA, Sutherland LC, *et al.* Review, Apoptosis : molecular regulation of cell death. *Eur J Biochem*, 236:1-26, 1996.
17. Potten CS, Chwalinski S, Swindell R, *et al.* The spatial organization of the hierarchical proliferative cells of the crypts of the small intestine into clusters of 'synchronized' cells. *Cell Tissue Kinet*, 15:351-370, 1982.
18. Harmon BV, Allan DJ. X-ray-induced cell death by apoptosis in the immature rat cerebellum. *Scan Microsc*, 2:561-568, 1988.
19. Inouye M, Tamaru M, Kameyama Y. Effects of cycloheximide and actinomycin D on radiation-induced apoptotic cell death in the developing mouse cerebellum. *Int J Radiat Biol*, 61:669-674, 1992.
20. 오 현, 이송은, 양정아 등. 성숙 및 신생마우스에서 아포프토시스를 이용한 방사선 피폭의 생물학적 지표. 대한수의학회지, 38(4):679-685, 1998.
21. Mori N, Okumoto M, Morimoto J, *et al.* Genetic analysis of susceptibility to radiation-induced apoptosis of thymocytes in mice. *Int J Radiat Biol*, 62:153-159, 1992.
22. Cohen JJ. Programmed cell death in the immune system. *Adv Immunol*, 50:55-85, 1991.
23. Drazi A, Du X, Yang Z, *et al.* Interleukin-11 prevents apoptosis and accelerates recovery of small intestinal mucosa in mice treated with combined chemotherapy and radiation. *Lab Invest*, 75:33-42, 1996.
24. Lyons EA, Dyke C, Toms H, *et al.* In utero exposure to diagnostic ultrasound : A 6-year follow up. *Radiology*, 166:687-690, 1988.
25. O'Brien, WD. Dose-dependent effect of ultrasound on fetal weight in mice. *J Ultrasound Med*, 2:1-8, 1983.
26. Kimmel CA, Stratmeyer ME, Gallway WD, *et al.* The embryotoxic effects of ultrasound exposure in pregnant ICR mice. *Teratology*, 27:245-251, 1983.
27. Carstensen EL, Gates AH. Ultrasound and the fetus. In

- Biological Effects of Ultrasound(W.L. Nyborg and M.C. Ziskin, Eds.), Churchill Livingstone, New York, 85-95, 1985.
28. Hande MP, Uma Devi P. Effect of prenatal exposure to diagnostic ultrasound on the development of mice. *Radiat Res* , 130:125-128, 1992.
 29. Uma Devi P, Suresh R, Hande MP. Effect of fetal exposure to ultrasound on the behavior of the adult mouse. *Radiat Res* , 141:314-317, 1995.
 30. Moore Jr RM, Diamond EL, Carvalier RL. The relationship of birth weight and intrauterine diagnostic ultrasound exposure. *Obster Gynecol* , 71:513-517, 1988.
 31. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death *in situ* via specific labelling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* , 119:493-501, 1992.
 32. Wijsman JH, Jonker RR, Keizer R, Van De Velde CJH, *et al*. A new method to detect apoptosis in paraffin section : *in situ* end-labeling of fragmented DNA. *J Histochem Cytochem* , 41:7-12, 1993.
 33. Gobe GC, Axelsen RA, Harmon BV, *et al*. Cell death by apoptosis following x-irradiation of the foetal and neonatal rat kidney. *Int J Radiat Biol* , 54:567-576, 1988.
 34. Allan DJ, Gobe GC, Harmon BV. Sertoli cell death by apoptosis in the immature rat testis following x-irradiation. *Scan Microsc* , 2:503-512, 1988.
 35. Cunningham TJ. Naturally occurring neuron and its regulation by developing neural pathways. *Int Rev Cytol* , 74:163-185, 1982.
 36. Clarke PGH. Neuronal death in the development of the vertebrate nervous system. *Trends Neuro Sci* , 8: 345-349, 1985
 37. Inouye M, kameyama Y. Cell death in the developing rat cerebellum following x-irradiation of 3 to 100 rad : a quantitative study. *J Radiat Res* , 24:259-269,1983
 38. Inouye M. Cerebellar malformation in prenatally x-irradiated rats : quantitative analysis and detailed description. *Teratology* , 20:353-364, 1979.
 39. Altman J, Anderson WJ, Wright KA. Reconstitution of the external granular layer of the cerebellar cortex in infant rats after low-level x-irradiation. *Anat Rec* , 163: 453-472, 1969.
 40. Whyllie AH, Morris RG, Smith AL, *et al*. Chromatin cleavage in apoptosis : association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol* , 142:67-77, 1984.
 41. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis : a basic biological phenomem with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* , 26:239-257, 1972.
 42. Stolzenberg SJ, Torbit CA, Edmonds PD. Effect of ultrasound on the mouse exposed at different stages of gestation : Acute studies. *Radiat Environ Biophys* , 18: 245-270, 1980.
 43. Barnett SB. Williams AR. Identification of mechanisms responsible for fetal weight reduction in mice following ultrasound exposure. *Ultrasonics* , 28:159-166. 1990.
 44. Brent RL, Jensch RP, Beckman DA. Medical sonography : Reproductive effects and risks. *Teratology* , 44: 123-146, 1991.
 45. Brent RL. The effect of ionizing radiation, microwaves and ultrasound on the developing embryo : Clinical interpretations and applications of the data. *Curr Proble Pediatr* , 14:1-87, 1984.