

임신마우스에서 수용성카이토산에 의한 태아의 방사성스트론튬 오염 억제

김광윤 · 범희승 · 양광희 · 최근희 · 채기문 · 김지열

전남대학교 핵의학과

요 약

핵분열생성물중의 하나인 방사성스트론튬은 임신한 쥐에서 태반을 빠르게 통과하여 태아를 오염시킨다. 독성이 적은 천연착화제로서 마우스체내의 방사성스트론튬(Sr-85)의 제거에 효과적인 것으로 알려진 카이토산을 이용하여 Sr-85의 태반오염억제에 관한 연구를 하였다. 실험군은 일반식이로 공급한 대조군과 임신 17일째에 수용성카이토산을 피하(1% 카이토산), 구강(10% 카이토산), 복강(0.3% 카이토산)으로 주사한 카이토산군으로 분류하였다. 피하주사군은 Sr-85 오염후 카이토산을 주사한 군이며 복강과 구강주사군은 Sr-85 오염전 15일간 카이토산을 공급한 군이었다. 출산과 동시에 어린마우스의 전신을 측정된 결과 출생후 7일째에 대조군이 $2.8 \pm 0.3\%$ 의 전신축적율을 나타낸 반면 피하, 구강, 복강 주사군은 각각 $1.2 \pm 0.1\%$, $1.4 \pm 0.1\%$, $1.6 \pm 0.2\%$ 로 나타났다. 결과적으로 임신한 마우스에서 수용성카이토산은 방사성스트론튬의 태반오염을 유의하게 억제하는 것으로 사료된다.

Key Words : 카이토산, 방사성스트론튬, 임신마우스

서 론

방사성스트론튬(Sr-90 및 Sr-89)은 핵분열산물 중 I-131, Cs-137과 더불어 환경중으로 방출되어 인체에 심각한 영향을 미치는 방사성핵종으로서 방사성스트론튬[1], 주로 뼈에 침착되어 악성종양을 일으킨다고 보고되고 있다[2]. 방사성스트론튬은 태반을 잘 통과하므로, 임신중에 모체에 방사성스트론튬이 오염되는 경우 태아의 오염은 피할 수 없게 된다[3].

방사성스트론튬의 제거를 위해서 화학적착화제가 사용될 수 있으나, 자체의 독성때문에 많은 양을 사용할 수 없을 뿐 아니라, 특히 임신중에는 사용이 불가능하다. 카이토산은 균류 및 갑각류의 유기골격물질인 카이틴에서 유도된 물질로 [4], 2가 양이온을 흡착하는 성질이 있어[5], 방사성스트론튬 오염의 치료에 효과가 있다고 보고되고 있어[7], 임신중 방사성스트론튬 오염의 예방 및 치료에 적합하다고 생각된다.

본 연구에서는 임신마우스에서 방사성스트론

튬 오염 전후에 수용성카이토산을 투여함으로써 태아에서의 방사성스트론튬 오염을 줄일 수 있는지 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물로는 삼육축산에서 생산, 공급하고 있는 8-10주령의 수컷과 암컷 마우스(체중 25-35g)를 교미시켜 얻은 임신마우스(체중 38-45g)와 0-7일령의 어린생쥐(체중 2.3-4.8g)를 이용하였다. 마우스는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지된 사육실에서 폴리카보네이트로 제작된 사육장(40 × 25 × 17cm)에서 사육하였고, 사료와 급수는 *ad libitum*으로 공급하였다.

2. 카이토산 및 Sr-85

카이토산은 수용액에 용해되는 수용성 카이토산으로서 분자량 230,000의 일본 태평화학 제품을 구입하여 생리식염수에 용해시켜 1%나 0.3%의 용액 형태로 주입하거나, 분말상태로 일반식이와 혼합하여 공급하였다.

방사성스트론튬(SrCl_2 , 이하 Sr-85)은 Amersham사(England) 제품을 구입하여 사용하였으며, Sr-85는 생리식염수에 희석하여 $0.2\mu\text{Ci/ml}$ 가 되도록 조정하고, 각 마우스에 $0.005\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 을 투여하였다.

3. 실험군

실험군은 전체 4개의 군으로 분류하였다. Sr-85 피하주사후, 5시간 후부터 생리식염수를 피하주사한 군을 대조군으로 하였으며, 제1실험군은 임신 17일째에 $0.005\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 의 Sr-85를 피하주사하고, 5시간 후부터 1% 수용성카이토산 용

액을 1일 2회 2일간 총 0.02mg/B.W(g) 를 피하주사하고, 출산후부터 어린 생쥐중의 전신방사능을 계측한 군이며, 제2실험군은 10% 카이토산을 식이중에 혼합 15일간 총 0.3mg/B.W(g) 을 구강섭취토록한 후, 교미와 동시에 공급을 중단하고, 임신 17일 째에 $0.005\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 의 Sr-85를 피하주사하고, 출산 후부터 어린 생쥐중의 전신방사능을 전신계측한 군이며, 제3실험군은 0.3% 카이토산용액을 15일간 총 0.03mg/B.W(g) 를 정맥주사한 후, 교미와 동시에 공급을 중단하고, 임신 17일째에 $0.005\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 의 Sr-85를 피하주사한 후, 출산후 부터 어린 생쥐중의 전신방사능을 전신계측한 군으로 분류하였다. 임신마우스 5마리씩을 1개 실험군으로 하였다.

4. 방사능 계측

Sr-85 중의 감마방사능은 감마카운터(Hewlett-Packard, Cobra 5005, USA)를 이용하여 마우스의 전신중의 CPM을 측정하였고, 방사성스트론튬의 감마에너지(515Kev)와 방출비율(98%)을 고려하여 450-600Kev 에너지 범위내에서 측정하였다.

측정시 측정시간경과에 따른 물리적감소량은 시간별 감소율에 따라 보정하나, 생체조직에 의한 방사선의 흡수 및 방사선피폭에 따른 체내대사의 변화 등 생물학적 변경요인은 무시하고, 다만 대조군과 실험군을 동일 조건으로 측정함으로써 상대적 측정치 만을 이용하였다.

5. 통계처리

전체실험군의 통계학적 유의성은 개인용 컴퓨터의 SAS 통계프로그램중 ANOVA를 이용하여 검정하였으며, 실험군간의 통계학적 차이는 student's t-test(양측검정)를 이용하여 검정하였다. 각 자료는 P값 0.05 미만의 것을 유의한 수준으

Table 1. Whole-body retention(%) of Sr-85 at 1, 2, 7th day after birth in the litters of mice.

Groups	whole body retention (%)			
	n	day 0	days 2	days 7
Control	5	3.1 ± 0.3	2.9 ± 0.3	2.8 ± 0.3
Group 1	5	1.8 ± 0.3*	1.3 ± 0.1*	1.2 ± 0.1*
Group 2	5	2.1 ± 0.3*	1.4 ± 0.1*	1.4 ± 0.1*
Group 3	5	2.1 ± 0.2*	1.7 ± 0.2*	1.6 ± 0.2*

Control : saline(4.5%) was injected(s.c) after Sr-85 injection(s.c),

Group 1 : 1% of chitosan solution was injected after Sr-85 injection(s.c),

Group 2 : Sr-85 was injected(s.c) after the feeding of chitosan powders(10%) for fifteen days(p.o),

Group 3 : Sr-85 was injected(s.c) after the injection of chitosan solution(0.3%) for fifteen days(i.v),

* p<0.01 vs control

로 하였다.

결 과

임신 17일째에 Sr-85를 임신마우스에 피하주사하고, 각각 다른 실험조건으로 수용성카이토산을 처리한 후 모체에 주입된 Sr-85가 카이토산의 영향에 의해 각각 다르게 태반을 통하여 태아에 축적된 정도를 생후 7일간 관찰하여 각 군간의 자료를 대조군의 경우와 비교한 결과가 Fig. 1과 Table 1에 나타나 있다. 대조군은 카이토산을 투여하지 않고 Sr-85 주사후, 생리식염수만을 주사한 경우이다. 각 수치는 5개체씩의 평균을 낸 것이고, 표준편차도 함께 표시하였다.

Sr-85 피하주사후, 생리식염수를 피하주사한 대조군에서는 출생시에 3.1±0.3%, 2일째에 2.9±0.3%, 7일째에 2.8±0.3%의 전신축적율을 나타내었다. Sr-85를 피하주사하고, 5시간 후 1% 수용성카이토산 용액을 1일 2회 2일간 피하주사하고, 출산후부터 어린 생쥐중의 전신방사능을 재측한 제1실험군의 경우 출생과 동시에 측정된 어린생

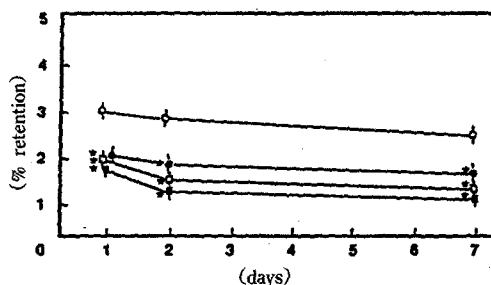


Fig. 1. Whole-body retention(%) of Sr-85 in the fetus of mice.

*p<0.01 vs control,

Grouping : see table 1.

쥐의 전신방사능은 1.8±0.3%였으며, 2일째에는 1.3±0.1%를, 7일째에는 1.2±0.1%를 나타내었다. 10% 카이토산을 식이중에 혼합 15일간 구강섭취토록한 후, 교미와 동시에 공급을 중단하고, 임신 17일째에 Sr-85를 피하주사하고, 출산 후 부터 어린 생쥐중의 전신방사능을 전신계측한 제2실험군은 제3실험군과 비교시 별 차이가 없었는데, 출생과 동시에 측정된 어린생쥐의 전신방사능은 2.1±0.3%였으며, 2일째에 1.4±0.1%를, 7일째에는 1.4±0.1%를 나타내었다. 제3실험군은 0.3%

카이토산용액을 15일간 정맥주사한 후, 교미와 동시에 공급을 중단하고, 임신 17일째에 Sr-85를 피하 주사한 후, 출산후 부터 어린 생쥐중의 전신방사능을 전신계측한 군인데, 출생과 동시에 측정된 어린생쥐의 전신방사능은 $2.1 \pm 0.2\%$ 였으며, 2일째에 $1.7 \pm 0.2\%$ 를, 7일째에는 $1.6 \pm 0.2\%$ 를 나타내었다.

전반적으로 카이토산을 처리한 실험군은 대조군에 비해 통계학적으로 유의하게 전신축적율이 저하되었다($P < 0.01$).

고 안

^{85}Sr 은 동물체내에 유입되었을 때 흡수량의 90% 이상이 골격부위에 침착되는 것으로 알려져 있다[8]. 정맥으로 주입된 ^{85}Sr 은 시간이 경과함에 따라 변(0-13%)과 뇨(13-67%)로 배출이 되는데[9], 주입된 지 14일 째에는 마우스체내에 45% 정도가 잔존하는 것으로 보고되었다[10]. 또한, 피하주사로 인한 pharmacokinetics에 대해서는 충분한 연구가 이루어지지 않았지만 ^{85}Sr 은 손상된 피부로 25.5-45.8%가 흡수되는 것으로 보고된 바 있다[11].

방사성스트론튬이 임신중인 마우스에 주입될 경우 태반을 거쳐 태아를 오염시키는 것으로 알려져 있다[3]. 본 연구의 주안점은 독성이 적은 카이토산을 이용하여 방사성스트론튬의 태반으로의 이행을 억제하여 궁극적으로는 태아의 방사능오염을 방어하자는데 있다. 카이토산과 Sr-85을 주사기로 주입시 임신마우스중의 태아가 손상되지 않도록 피하주사법을 이용하였고, 교미 전에는 꼬리의 정맥을 통해 주사하여 카이토산이 혈액중으로 충분히 공급되도록 하였다. 그리고 정맥을 통해 공급되는 카이토산의 효과와 비교하기 위하여 식이중에 분말 카이토산을 혼합

하여 공급하였다. Sr-85는 $0.005\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 을 주입하였다. 일반적으로 방사성스트론튬은 $0.5\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 에서 osteogenic sarcoma를 일으키며 $0.7-1.6\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 에서 carcinogenic transformation을 일으키는 것으로 보고되고 있는데[12], 본 실험에서 사용한 Sr-85는 $0.005\mu\text{Ci/B.W(g)}$ 로서 예비실험 결과 세포독성은 보이지 않았다. 카이토산의 농도는 정맥주사의 경우 0.3%, 피하주사의 경우 1%를 사용하였는데 이는 카이토산이 지닌 점도로 인해 주입할 수 있는 최대의 농도였다. 마우스의 경우 임신 15일과 19일 사이에 태아의 대사회전율이 가장 빠르게 진행된다는 Ruhmann 등(1963)의 보고[13]에 근거하여 임신 17일째에 Sr-85을 오염시키고, 카이토산에 의한 오염억제 효과를 관찰하였다. 카이토산의 주입방법에 있어서, 제1실험군은 Sr-85 오염 이후에 카이토산을 처리하였다. 이때, 5시간이내에 50% 이상의 Sr-85가 골격에 침착된다는 보고[8]에 근거하여 카이토산은 Sr-85 오염 5시간 후부터 처리하였다. 제 2, 3실험군은 Sr-85 오염 이전에 카이토산을 처리하였다. Sr-85 오염후 카이토산을 처리한 경우는 카이토산 용액과 카이토산 분말을 이용하였다. 결과를 비교해 보면 세개의 실험군이 각기 대조군에 비해 유의적인 효과를 나타낸 것을 Fig. 1과 Table 1에서 볼 수 있다. 이 결과로 보면, 임신전이나 임신후에 카이토산을 처리했을 때, 공통적으로 태아로의 오염을 억제할 수 있다는 것을 보여주고 있다.

김 등(1993)의 보고[14]에 의하면 30일에서 90일 까지의 장기간 Sr-85 오염전에 카이토산을 처리하는 것이 방사능의 흡수를 저해시키는데 효과가 있는 것으로 나타났는데, 본 연구에서는 15일간이라는 짧은 기간으로 비교적 단기간의 실험이었으므로 비교적 낮은 축적저해효과를 나타내었다. 게다가 15일간 카이토산을 공급하고,

출산에 미칠 영향을 배제하기 위하여 카이토산의 공급을 중단하였으므로 교미 후 방사성스트론튬 주입 시기인 17일동안에 카이토산의 효과가 덜 작용한 것으로 보인다. 그러나 카이토산이 효과를 보였다는데 대해서는 카이토산이 최소한 20여일간 체내에서 Sr-85의 이동에 영향을 줄 수 있다는 사실을 본 결과에서 얻을 수 있다. 제1실험군의 경우 방사성스트론튬 주입후 1일 2회씩 2일간 카이토산 용액을 주입하였는데 이 경우 좋은 효과를 나타내었다. 일반적으로 태아의 방사성스트론튬 축적율이 저하된 것은 모체에서 이미 카이토산이 영향을 미쳐, 즉, 방사성스트론튬과 착화물을 형성하여, 체외로 배출되었으므로 자연히 태아에서의 축적율도 저하된 것으로 생각할 수 있는데, 제1실험군의 결과는 이러한 예측과는 달리 정확한 대사경로는 알 수 없지만 태아에 오염된 또는 이미 태반을 통과하였거나, 태반에 잔존하는 방사성스트론튬의 흡착, 제거에 카이토산이 관여하였다는 사실을 암시해 주고 있다. 이는 임신 말기에 활발해진 어미 마우스의 decalcification과 태아에서 활발해진 골대사 때문으로 사료된다. 이 사실에 대한 정확한 증명을 위해서는 과연 카이토산이 태반을 통과하는가, 태반에는 어느 정도의 생물학적 반감기 동안 머무르는가에 대한 결과를 얻기 위하여 카이토산에 방사성동위원을 표지하여 추적자를 이용하여 그 대사 경로를 추적하여 카이토산의 영향력을 간접적으로 입증하여야 하리라 사료된다. 이러한 보장 실험등으로 카이토산이 모체뿐만 아니라 태아의 침착에도 영향을 미쳐 방사능의 축적을 억제하거나 제거한다는 사실이 입증된다면 불의의 사고시 그 응용에 있어서 중요한 의미를 지니고 있으리라 본다. 실제로 체르노빌 사고시 임신한 여성에 방사성물질이 오염되어 태반을 경유 태아를 오염시켜 선천성 질병을 유발한 것으

로 알려졌다[15].

Sr은 Ca과 동일하게 알칼리토금속에 속하므로, 생체내에서는 Ca과 유사하게 행동하며, 주로 뼈에 침착되는데, Sr-90은 물리학적 반감기가 길고, 에너지가 높아 장기간내부폭시 핵분열생성물 중에서도 특별히 위험한 핵종으로 간주되고 있다. 이러한 면에서 방사성스트론튬이 모체를 통해 태아에 이동된다는 것은 태아의 독성영향을 생각할 때 신중히 고려되어야 할 문제이다. 태아는 분만기가 가까워질수록 급속히 발육하며, 체중의 증가도 수반된다. 특히 임신후반기에 들어서면서 뼈의 형성이 왕성해지면서, 그로 인하여 모체의 Ca이 능동적으로 태아로 수송되고 이때 모체내에 유입된 방사성스트론튬이 Ca의 흐름에 편승하여 서서히 태반을 통과하여 태아로 유입되는 것으로 예측된다. 마우스의 태아에서 Sr의 유입은 임신 14-15일이 지나면서 태아로의 Sr의 유입량이 현저히 증가하므로 태아에 대한 방사성스트론튬의 침착은 임신일수에 의존하는데 임신 18일째에는 유입량의 4.6%가 태아에 오염되는 반면, 임신 14일째에는 0.7%만이 오염되는 것으로 보고되었다[3, 16].

카이토산은 게, 새우 등의 갑각류의 외골격에서 분리되는 물질인 카이틴의 화학적변형체인데 이 물질은 일반독성뿐 아니라 세포유전학적 독성이 없는 것으로 보고된 바 있어서[17], 태아 오염 억제에 대한 유용성이 더욱 깊이 연구될 경우 핵사고시 긴요하게 이용될 수 있는 중요한 자원으로 쓰일 수 있으리라 기대된다. 본 연구의 문제점은 카이토산이 Sr-85의 태반으로의 이행을 억제하는 것으로 관찰하였으나, 그 생리적 기전을 밝히지 못한 것이다. 방사성동위원소로 표지된 카이토산을 이용하여 태반을 통과하는 Ca 등과의 상호작용이 태아에서의 Sr-85 오염 방어에 미치는 효과를 구명하는 것이 필요할 것으로 사

료된다.

참고문헌

1. O. Arturo, G. Mercedes, L. D. Jose, and C. Jacinto, "The removal of strontium from the mouse by chelating agents." *Archives Environmental Contamination Toxicology* **18**, 612-616 (1989).
2. A. A. V. Barneveld, V. Puymbroeck, and O. Vanderbrought, "The action of sodium alginate in the food on a Sr body burden in mice." *Health Physics* **33**, 533-537 (1977).
3. N. Matsusaka, and Y. Nishimura, "Transfer of main radionuclides to fetus." *Japanese J of Atomic Power* **24**(9), 22-29 (1982).
4. T. Sannan, K. Kurita, and Y. Iwakura, "Studies on chitin kinetics of deacetylation reaction." *Polym J* **9**, 649-651 (1977).
5. L. D. Hall, and M. Yalpani, "Enhancement of the metal chelating properties of chitin and chitosan." *Carbohydrate Research* **83**, C5-C7 (1980).
6. H. S. Bom, K. Y. Kim, K. H. Yang, H. K. Kim, and Y. Nishimura, "The removal of radiostrontium from the mouse by water soluble chitosan." *Proceeding of Chitin/Chitosan Symposium* 34-35 (1994).
7. K. Arai, T. Kinumaki, and T. Fugita, "Toxicity of chitosan." *Bulletin of Tokai Regional Fisheries research Lab* **56**, 86-94 (1968).
8. A. A. Van Barneveld, Van Puymbroeck, and O. Vanderbrought, "The action of sodium alginate in the food on a ⁸⁵Sr body burden in mice." *Health Phys.* **33**, 533-537 (1977).
9. A. Engstrom, R. Bjornerstedt, C. J. Clemedson and A. Nelson, "Bone and Radiostrontium." "Internal radiation hazards from radiostrontium." In : *Bone and Radiostrontium*, A. Engstrom, R. Bjornerstedt, C. J. Clemedson and A. Nelson, eds., pp. 20, John Wiley & Sons Inc., New York (1958).
10. A. Engstrom, R. Bjornerstedt, C. J. Clemedson and A. Nelson, "Bone and Radiostrontium." Internal radiation hazards from R. Bjornerstedt, C. J. Clemedson and A. Nelson, eds., pp. 18, John Wiley & Sons Inc., New York (1958).
11. L. A. Ilyin, A. T. Ivannikov, Yu. D. Parfenov and V. P. Stolyarov, "Strontium Absorption through damaged and undamaged human skin." *Health Physics* **29**, 75-80 (1975).
12. A. Engstrom, R. Bjornerstedt, C. J. Clemedson and A. Nelson, "Bone and Radiostrontium." "Internal radiation hazards from radiostrontium." In : *Bone and Radiostontium*, A. Engstrom, R. Bjornerstedt, C. J. Clemedson and A. Nelson, eds., pp. 22, John Wiley & Sons Inc., New York (1958).
13. A. G. Ruhmann, B. J. Stover, K. R. Brizzee, and D. R. Atherton, "Placental transfer of strontium in rats." *Radiation Research* **20**, 484-492 (1963).
14. 김지열, 김광윤, 범희승, 김희경, "마우스복강내 투여한 방사성스트론튬의 체외배설촉진제로서 카이토산의 효과에 관한 연구." *대한핵의학회지* **27**(2), 293-297 (1993).
15. A. Auvinen, M. Hakama, H. Arvela, T. Rahaola, and B. Soderman, "Fallout from chernobyl and incidence of childhood leukaemia

- in finland 1976-92." *British Medical Journal* **309**, 151-154 (1994).
16. C. Ronnback, "Strontium retention in mouse fetuses at different intervals after contamination of the dam." *Acta Radio. Oncol.* **25**(2), 155-159 (1986).
17. K. Y. Kim, H. S. Bom, K. H. Choi, K. M. Chae, J. Y. Kim, and H. K. Kim, "Cytogenetic Toxicity of Chitosan. Proceeding of Chitin/Chitosan Symposium 33 (1994).

Inhibition of Radiostrontium Contamination to Fetus by Water Soluble Chitosan in Pregnant Mice

Kwang-Yoon Kim, Hee-Seoung Bom, Kwang-Hee Yang,
Keun-Hee Choi, Ki-Moon Chae, Ji-Yeul Kim

Department of Nuclear Medicine, Chonnam University Hospital Kwangju, Korea

ABSTRACT

Radiostrontium passes the placental barrier in pregnant rodents very well. Chitosan, a natural nontoxic chelator, was reported to reduce whole body retention of radiostrontium in mice. The aim of the present study was to evaluate water soluble chitosan as a blocking agent of transplacental transfer of radiostrontium in pregnant mice. Twenty pregnant mice were divided into four groups: control and three groups of chitosan treatment (groups 1 to 3). Sr-85 (15KBq in 0.2ml saline) was subcutaneously injected into pregnant mice at the 17th day of pregnancy. In control mice, 0.2ml saline was given 5 hours after the injection of Sr-85. In group 1, 1% water soluble chitosan was given subcutaneously for two days, twice daily after the injection of Sr-85. In group 2, 10% water soluble chitosan was given orally for 15 days before conception. In group 3, 0.3% water soluble chitosan was injected intravenously for 15 days, once daily before conception. Gamma counting of newborns were done at days 0, 2 and 7 after their births. Whole body retention of Sr-85 in newborns of control mice at days 0, 2, 7 were $3.1 \pm 0.3\%$, $2.9 \pm 0.3\%$, $2.8 \pm 0.3\%$ respectively. In experimental groups, whole body retention of Sr-85 was significantly lower than that of control ($p < 0.01$) and no statistical difference was noted between them. In group 1, the values were $2.1 \pm 0.3\%$, $1.4 \pm 0.1\%$, $1.4 \pm 0.1\%$, respectively. In group 3, they were $2.1 \pm 0.2\%$, $1.7 \pm 0.2\%$, $1.6 \pm 0.2\%$, respectively.

In conclusion, the water soluble chitosan reduced transplacental contamination of radiostrontium in pregnant mice.