

금붕어의 眼球突出에 關한 實驗的研究

The Production of Experimental Exophthalmos in Gold Fish

第 1 陸 軍 病 院 眼 科
서울大學校 醫科大學 眼科學教室
<指導 尹源植 副教授>

尹 東 浩

1931年 Schockaert 가 오리에 腦下垂體前葉抽出物을 注射하여 眼球突出을 일으키는데 成功한以來¹⁾ 많은 學者들이 各種哺乳動物에 對하여 實驗的 眼球突出을 發生시켰다²⁻⁵⁾ 魚類가 이러한 實驗에 銳敏하게 反應한다는 事實은 Albert 에 依하여 指摘되었고 그는 Atlantic minnow(Fundulus heteroclitus)에 腦下垂體前葉抽出物을 注射하여 眼球가 突出됨을 報告하였으며⁶⁾ 이 結果는 그後 여러사람의 實驗에 依하여 追試確認되었다⁷⁻¹¹⁾. Canadell 등은 금붕어에게 比較的 容易하게 眼球突出을 일으킬 수 있다고 하였다¹²⁾.

實驗的으로 眼球突出을 일으키는 方法으로는 앞서 말한 腦下垂體前葉抽出物이 가장 많이 利用되어 왔으며 近來에 化學的 分離技術의 進歩와 더불어 그중의 여러 가지 向腺性호르몬(trophic hormone)을 比較的 純粹하게 얻을 수 있게된 後로는 특히 thyrotrophic hormone (thyroid-stimulating hormone, TSH 라고 略함)이 널리 使用되기에 이르러 主로 이 TSH 가 眼球突出發生에 直接 原因이 된다고 생각되어왔다. 그러나 Dobyns 등은 注射物質의 TSH 力價와 眼球突出度사이에 平行한 關係를 發見치 못하여 TSH 의 原因說에 疑義를 품어 研究結果 TSH 와는 別個의 物質을 分離하여 이를 exophthalmos-producing substance(EPS 라고 略함)라고 命名하고⁷⁾ 內分泌性眼球突出患者血清內에 이 物質이 包含되어 있음을 證明하였다^{8,11)}. 그後 여러 學者에 依하여 患者血清內의 EPS 를 使用한 實驗的 眼球突出이 成功하였음이 報告되었다^{10,13)}.

著者は 比較的 容易하게 求할 수 있고 잘 飼育되는 金붕어를 使用하여 이에 各種物質을 注射하여 眼球突出을 發生시켰으므로 報告하여 各物質의 作用을 比較考察코자 한다.

實驗動物 및 方法

金붕어(Carassius auratus, var. japonicus, subvar.

bicaudatus)는 2年生으로 身長이 8~10cm 되는것을 使用하였으며 2~3마리를 1群으로 하여 各各 別個의 容器에 飼育하였다. 물은 水道水를 24時間 放置하여 脫鹽素(dechlorination)한 다음 使用하였으며 市販의 飼料를 投與하였다. 붕어의 個體識別은 그꼬리의 形態, 斑紋等으로 할 수 있었으며 特別한 標識은 하지 않았다.

眼球突出度는 左右兩眼의 角膜頂點間의 巨離(intercorneal distance, ICD 라고 略함)를 micrometer로 測定하였으며 各한마리에 3回測定을 하여 그 平均値를 代表로 取하였다. 突出度의 變化는 注射前의 ICD 에 對한 注射後의 變化百分率로 表現하였다. 한마리에 對하여 8回式 14마리에서 112回의 測定을하여 그 測定誤差를 檢討한 結果 誤差의 最大値는 平均値의 2.3%가 되었으므로 3%以上의 ICD 變化는 이를 有意한것으로 處理하였다. 測定은 始終 同一人에 依하여 行하여 졌다.

試驗코저하는 物質은 tuberculin 注射器에 No. 26 針을 달아 腹壁를 通하여 腹腔內에 注射하였다. 1回의 注射量은 0.5cc 를 超過하지 않도록 하였으며 이 程度量의 注射로는 動物의 行動이나 生存에 何等의 影響을 招來하지 않았다.

正常人 및 內分泌性眼球突出患者의 血液은 採取後 4°C 의 冷藏庫에 8時間 貯藏한後 遠心沈澱하여 血清을 分離하고 稀釋하지 않은 狀態로 注射 하였다.

腦下垂體前葉抽出物로는 Prae-hormon(鹽野義)을 使用하였으며 粉末을 生理的食鹽水에 溶解하여 直時 所要量을 注射하였다. 量은 Rat Unit(RU)로 表示되어있으며 이에 包含되어있는 各호르몬(특히 TSH)의 含量은 不明이다.

副腎皮質 호르몬으로는 Cortisolone(prednisolone, Pacific States Lab. Inc.)의 食鹽水懸濁液을 使用하였다.

結 果

1. 無處置

何等의 處置를 하지않은 붕어는 1週日間 繼續 測定하였으나 ICD의 變化가 證明되지 않았다.

*本論文要旨는 1962年 第62次 大韓眼科學會 集談會에서 發表하였음.

2. 生理的食鹽水注射

3마리에 各各 0.9% NaCl 液 0.5cc 를 注射하였으나 72時間後까지 ICD 에 有意한 變化를 發見할 수가 없었다.

3. 正常人血清(Fig. 1)

3마리에 28歲 正常人男子의 血清 0.5cc 를 注射하니 Fig. 1에서 보는바와 같이 12時間後에 1例에서 24時間後에는 2例에서 ICD의 有意한 減少가 나타났으며, 이 狀態는 48時間後에는 다시 原狀態로 되돌아갔다.

이때에 同一한 血清 0.5cc 를 再次 注射하였든바 第2次 注射 24時間後에 다시 2例에서 ICD가 減少됨을 發見하였으며 5日後에는 原狀態로 回復되었다. 이로써 血清의 反覆注射는 1回注射와 同一한 反應을 보이니 그 反應消失이 若干 遲延됨을 알 수 있다.

4. 眼球突出患者血清注射(Fig. 1, 3)

여기에 使用한 血清은 diffuse toxic goiter 例에서 採取한 것이다. 이 患者는 21歲의 女子로 約 1個月前에 症狀를 發見하였으며 前에 何等의 治療도 받지 않았다. 서울醫大 同位元素室에서 行한 檢査成績은 다음과 같다.

- I-131 攝取率.....51.5%(6時間 및 24時間)
- protein-bound iodine...41.5%
- 基礎代謝率.....+17%

眼症狀으로는 眼球突出度가 兩眼 17mm 이고 Graefe's sign 陰性, lid retraction 은 없었다.

3마리에 血清 0.5cc 式을 注射하고 48時間後에 第2次로 0.3cc 式을 注射하였다. Fig. 1에서 나타난바와 같이 第2次 注射時까지는 1마리를 除外하고는 ICD에 變化는 없었으나 第2次 注射 12時間後에 2마리에서 ICD가 增加됨이 發見되었고 나머지 한마리에서는 다시 12時間後에 ICD의 增加가 證明되어 이러한 全例에서의 眼球突出은 第2次 注射 100時間後까지 持續되며 그後는 漸次 ICD는 減少되어 10日後에는 거의 原狀態로 復歸하였다.

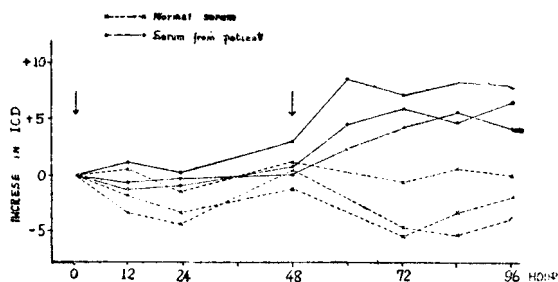


Fig. 1. Increase in the intercorneal distance (ICD) caused by normal human serum (broken line) and serum of an exophthalmic patient (solid line). Each series consisted of 3 fishes, The arrow indicates the injection of test materials,

5. 腦下垂體激素 및 副腎皮質激素注射(Fig. 2, 3)

6마리를 3群으로 나누어 第1群에는 第1次로 5RU, 第2次로 20RU, 第2群에는 各各 12RU, 50RU, 第3群에는 第1次 및 2次注射量은 第2群과 同一하나 다만 各回에 prednisolone 1mg 式을 添加하여 注射하였다(1마리當 總量 2mg). 第2次注射는 第1次注射 24時間後에 實施하였다. 結果를 Fig. 2에 表示하였다.

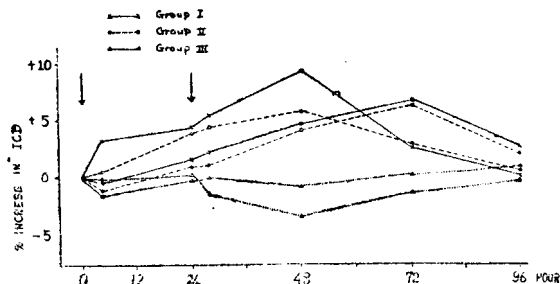


Fig. 2. Increase in the intercorneal distance (ICD) caused by the anterior pituitary hormone in 3 groups of fish, 2 in each group. The total doses injected were, 25 RU in group I (solid line), 62 RU in group II (broken line) and 62 RU with 2 mg of prednisolone in group III (dotted line). The arrow indicates injection.

第1群의 1例에서는 第1次注射後 4時間만에 벌써 ICD의 增加가 나타나고 24時間後에는 第1群 및 第2群의 半數例에서 ICD의 增加가 證明되었으며 第2次注射 24時間後에는 全例에서 眼球突出이 發生하였다. 第1次注射後 72時間에서는 半數는 原狀態로 돌아갔으며 4日後에는 全部가 다原狀態로 復歸되었다. 興味있는 事實은 眼球突出이 일직 發生한 붕어는 그 消失도 빠르다는 것이 다.

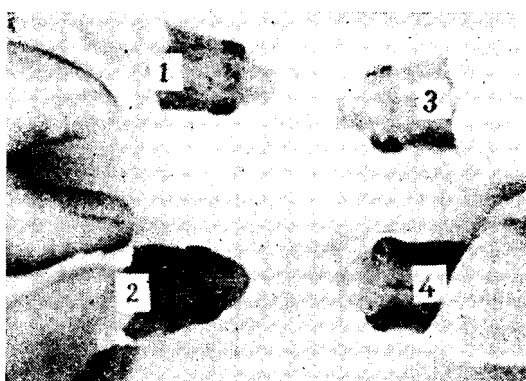


Fig. 3. Photograph of gold fish illustrating the experimentally produced exophthalmos, Fish No. 1 and 2 show normal controls, No. 3 and 4 fish made exophthalmic by the administration of a patient's serum (No. 3) and the anterior pituitary hormone. (No. 4).

第1群과 第2群사이에는 그 投與量이 倍以上 差가있는 데도 不拘하고 ICD의 增加率에는 何等の 差가 發見되지 않았다.

第3群에서는 한마리에서 第1次注射後 48時間에의 ICD 有意한 減少가 認定되었으며 單 한마리는 正常範圍에 머물러 있었다.

考 索

甲狀腺機能과 內分泌性眼球突出과의 關係에 對하여는 方來로 異論이 많으며 오늘날까지 우리들은 괴롭히고 있는 問題이다. 甲狀腺의 機能亢進에 그 原因을 돌리는 意見은 이미 여러가지 臨床的 實驗的 事實으로써 그 根據를 잃어버렸으며 그代身 腦下垂體前葉의 機能과 더 直接的인 關聯이 있다는 見解가 登場하여 많은 사람들의 支持를 얻고 있지만 아직도 우리들의 이에 對한 知識은 不完全함을 免치 못하고 있다.

腦下垂體前葉抽出物을 使用하던 實驗的으로 眼球突出을 일으킬 수 있다는 것은 周知의 事實이지만^{1,4-15} 이 抽出物에 包含되어 있는 여러가지 物質中 어느것이 直接 眼球突出을 發生시키는 原因이나 하는 問題는 여러가지 實驗的 結果가 區區하다.

腦下垂體前葉홀몬中 growth hormone, follicle-stimulating hormone, gonadotrophin, prolactin 등의 單獨投與로는 眼球突出이 發生되지 않는다는 것은 報告되어 있지만⁴⁵ TSH의 役割에 對하여는 아직도 意見의 混亂이 있다. TSH가 直接 exophthalmogenic factor 라는 實驗的 根據는^{4,6,9,12,14,15} 純粹한 TSH 만의 抽出이 困難한 現狀에서 TSH 以外物質에 依한 contamination 을 全的으로 否定할 수 없다는 反論에 對하여는 그리 有力한 힘이 되지 못한다. TSH 力價의 assay 法의 進歩에 따라서 實地臨床例에 血中の TSH 力價와 眼球突出度사이에 關聯性이 없으며^{16,17} 또 動物實驗에서도 이와 同一한 結果가 나타났음이 밝혀지고⁴ 腦下垂體前葉抽出物을 iodination 한 後에 TSH 効果는 喪失되는데도 眼球突出 效果는 殘存한다는가 比較的 純粹하다고 생각되는 TSH의 注射만으로는 眼球突出이 發生하지 않는다는 事實들로 보아 TSH의 役割에 疑義가 提出되었^{2,3}. Dobyns 等도 이에 同調하여 thyrotrophin 製劑中에서 trichloroacetic acid(TCA)에 對한 溶解度의 差를 利用함으로써 EPS를 分離하였고 이 物質은 TCA로 溶解되는 部分에 比較的 純粹하게 存在한다고 하였^{7,8,11}. 이와같은 EPS의 存在는 그後 Brunish가¹⁹ pepsin digestion 法을 利用하여 EPS를 分離하므로 더 確實한 證據가 提示되었다.

腦下垂體前葉抽出物에 依하는 眼球突出度는 그 投與量에 正比例한다고 하나^{4,11,12,14} 이번 實驗結果는 이와 符合되지 않는다. 이 原因이 어디에 있는나를 考察하여

보면 다음의 여러가지 要因의 影響을 들 수 있다.

1) 單獨投與로는 眼球突出을 일으키지 못하는 數種의 物質이 協同作用(synergism)에 依하여 突出을 일으킴으로^(4,5,6) 이러한 物質들이 Prae-hormon 內에 包含된 可能性.

2) 眼球突出을 일으키는 物體와 拮抗的으로 作用하는 物質이 混入되었을 可能性.

3) 注射量이 大量이어서 有害作用으로 이러한 結果를 招來하였다는 可能性.

4) 금붕어 個體의 反應과 季節에 따르는 反應에 甚한 變動이 생긴 可能性.

5) 直接 眼球突出과는 關係없는 物質이 包含되어 이것이 間接的으로 眼球突出에 影響을 미쳤다는 可能性.

結局 이 問題는 比較的 力價가 明白한 標準抽出物을 使用한 結果와 對比하여 보아야지 解決될 것이다.

副腎皮質홀몬 乃至 ACTH는 動物에 對한 腦下垂體前葉抽出物의 眼球突出作用을 增強하는 것으로 알려져 있으나^{4,5,13,19} 眼球突出發生에 不可缺의 要因은 아니다¹⁵.²⁰이 홀몬의 關與機轉은 直接 全身結締織에 作用한다고도 하고¹⁹ 또 TSH 分泌을 促進, 刺戟한다고 하여²¹ 아직 明白치 않다. 그反面 사람에 있어서는 眼球突出의 治療에 使用되어 效果를 본 報告例도 있어^{22,23} 이 問題에 對한 結論을 맺는 것은 不可能하며, 따라서 이 實驗成績에 나타난바와 같이 prednisolone 添加로 眼球突出이 抑制된 事實도 그 機轉이 不明하다. 한가지 여기서 注目할 事實은 實驗動物에서 cortisone 注射로 發生되었다고 하는 眼球突出은 全身 特히 頭部骨骼의 發育이 抑制되고 眼球의 發育이 別影響을 받지않게 되므로 一見 眼球突出이라고 結論을 맺는다고 하여 動物實驗結果를 評價하는데 注意를 喚起시키고 있어 從前의 報告도 再檢討되어야 한다고 警告하고 있는 것이다²⁴.

正常人の 血清注射는 實驗動物의 眼球突出度에 何等の 影響을 주지 않는다고 하였지만^{10,12,13} 一過性的 輕度의 眼球突出^{13,25}이 일어나거나, 또는 反應이 不定하다고도 하는⁸ 反面, 眼球陷伏(enophthalmos)이 發生한다는 報告도 있다^{9,26}. 그들은 腦下垂體前葉抽出物 單獨注射時에 比하여 正常人血清을 이와 併合注射하면 眼球突出反應이 相當히 弱화된다는 事實에 立脚하여 正常人血清中에는 眼球突出을 抑制하는 物質을 想定하였다. 今番實驗結果는 이러한 說을 뒷받침 하는 것으로 血中の EPS와 exophthalmos-inhibiting factor의 平衡關係에 依하여 眼球突出의 程度가 決定된다는 見解에 가까운 것으로 생각한다.

眼球突出患者血清內에 EPS가 있어 이 血清注射로 眼球突出을 發生시킨 報告에 依하면^{8,11,13} 實驗動物의 이에 對한 反應은 그病期, 眼球突出의 進行性與否 等에 따라서 다르다고 한다. 이번에 使用한 血清은 比較的 病

期가 이르고, 眼球突出은 그리甚하지 않은患者에서 採取하였고 또 금붕어의反應은 他人의 實驗結果와 같이 20%를 超過하는 ICD의 增加¹²⁾는 나타나지 않았지만 明白히 眼球突出이 일어났으며 反應이 弱한 理由로는 이 患者의 經過를 觀察하여야만 確實한 解答이 나올것으로 생각되지만 惡性眼球突出이 아니라는 것이 큰 原因이 된 것 같다. 외나하던 惡性型患者의 血清이 가장 甚한 反應을 일으키기 때문이다^{11, 12, 13)}.

그러면 患者血清中에 있는 EPS와 腦下垂體前葉에 있는 EPS가 同一한 物質이나에 對하여는 確答하기에 時期尙早이지만 血清注射에 일어나는 反應이 좀더 緩徐하고 그 持續時間도 延長되는 事實로보아 EPS 그 自身은 同一한 것이라 하더라도 EPS와 結合하고 있는 蛋白質에 어떠한 構造上的 差가 있거나 많나하고 생각된다.

以上の 結果를 檢討하여보면 금붕어 自體에 反應에 對한 많은 個體差가 있고 季節의인 變動이 있지만 血中の EPS 檢出에 利用할 수 있음을 指摘하고 싶다.

結 論

금붕어 腹腔內에 生理的食鹽水, 正常人血清, 內分泌性眼球突出患者의 血清, 腦下垂體前等ホルモン, 副腎及質홀몬을 注射하여 注射前後의 兩眼의 角膜頂點間距離를 測定하여 그 變化率을 檢討하였다.

生理的食鹽水注射로는 眼球突出度에 變化를 招來하지 않았다.

正常人血清注射로는 一過性인 眼球陷伏이 發生하여 48時間後에는 原狀으로 回復이 되었다.

內分泌性眼球突出患者血清은 注射하면 顯著한 眼球突出이 나타나며 10日後에는 消失되었다.

腦下垂體前等ホルモン 注射로 顯著한 眼球突出이 出現하였으나 그 投與量의 多少에 따르는 突出度の 差는 發見 못하였다. 이 홀몬에 prednisolone을 添加注射하면 眼球突出効果는 抑制되는 結果를 招來하였다.

따라서 이러한 方法은 患者血中の EPS의 檢出에 利用될 수 있다.

끝으로 이 實驗에 後援하여주신 서울醫大 同位原素室여러분께 感謝를 드립니다.

Abstract

The Production of Experimental Exophthalmos in Gold Fish

Dong Ho Youn, M.D.

Dept. of Ophthalmology, The 1st Army Hosp.

Dept. of Ophthalmology, School of Medicine, Seoul National University.

Gold fish (*Carassius auratus*, var. *japonicus*) were 272

used for the demonstration of the exophthalmos-producing substance in the serum of a patient suffering from thyrotoxicosis with exophthalmos. The exophthalmic response of the fish was determined by measuring the intercorneal distance by the use of a micrometer before and after the injections of test materials, and the percentage change in that distance was calculated.

The responsiveness of the fish was partly controlled by the injections of normal saline, normal human serum, and commercially prepared anterior pituitary hormone with and without prednisolone added.

The normal saline injection did not provoke any response in fish. The normal human serum produced transient enophthalmos, whereas the serum from a patient suffering from toxic goiter with exophthalmos produced definite exophthalmos.

The anterior pituitary hormone elicited marked exophthalmic response. There was no correlation between the degree of response and the dosage level of the hormone used.

Addition of prednisolone to this hormone preparation seemed to inhibit the exophthalmogenic effect of the anterior pituitary hormone.

This method of the production of experimental exophthalmos in gold fish might be used for the demonstration of the exophthalmos-producing substance in the serum of the exophthalmic patient.

REFERENCES

- 1) Schockaert, J.A.: *Hyperplasia of thyroid and exophthalmos from treatment with anterior pituitary in young ducks. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 29: 306, 1931.
- 2) Jeffries, W.M.: *Studies of the relationship of the thyrotropic, exophthalmic and fat-mobilizing principles of pituitary extract. III. J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 9: 927, 1947.
- 3) Jeffries, W.M.: *Exophthalmos associated with disturbances in pituitary-thyroid axis. Am. J. Ophth.*, 36: 394, 1953.
- 4) Smelser, G.K. & Ozanics, V.: *Studies on the nature of exophthalmos-producing principle in pituitary extracts. Am. J. Ophth.*, 38(July; Pt. 2): 107, 1954.
- 5) Smelser, G.K. & Ozanics, V.: *Further studies on the nature of the exophthalmos-producing principles in pituitary extracts. Am. J. Ophth.* 39(Feb. Pt. 2): 146, 1955.

- 6) Albert, A.: *The experimental production of exophthalmos in Fundulus by means of anterior pituitary extracts. Endocrinology, 37 : 389, 1945.*
- 7) Dobyns, B.M. & Steelman, S.L.: *The thyroid-stimulating hormone of the anterior pituitary as distinct from the exophthalmos-producing substance. Endocrinology, 52 : 705, 1953.*
- 8) Dobyns, B.M. & Wilson, L.A.: *An exophthalmos-producing substance in the serum of patients suffering from progressive exophthalmos. J. Clin. Endocrinol. & Metab., 14 : 1393, 1954.*
- 9) Pollack, I., Constant, M.A., Rosenbaum, H. & Becker, B.: *Preliminary assay studies in the Minnow of exophthalmos-producing substance. Am. J. Ophth., 45 : 930, 1958.*
- 10) Schultz, R. O., Braley, A.E. & Hamilton, H. E.: *Bioassay for an exophthalmos-producing substance in human serum using the Atlantic minnow. Am. J. Ophth., 50 : 783, 1960.*
- 11) Dobyns, B.M., Wright, A. & Wilson, L.: *Assay of the exophthalmos-producing substance in the serum of patients with progressive exophthalmos. J. Clin. Endocrinol. & Metab., 21 : 648, 1961.*
- 12) Canadell, J.M. & Barraquer, J.: *Enhancing effect of corticotrophin on thyrotrophin produced exophthalmos in fish. Endocrinology, 64 : 1017, 1959.*
- 13) der Kinderen, P.J., Houtstra-Lanz, M. & Schwartz, F.: *Exophthalmos-producing substance in human serum. J. Clin. Endocrinol. & Metab., 20 : 712, 1960.*
- 14) Pickford, G.E.: *The response of hypophysectomized male killifish to prolonged treatment with small doses of thyrotropin. Endocrinology, 55 : 589, 1954.*
- 15) Smelser G.K. & Ozanics, V.: *The relation of the adrenal gland to experimental production of exophthalmos. Am. J. Ophth., 45 : 292, 1958.*
- 16) Purves, H. D. & Griesbach, W.E.: *Thyrotropic hormone in thyrotoxicosis, malignant exophthalmos and myxedema. Brit. J. Exper. Path., 30 : 23, 1949.*
- 17) Langford, H.F.: *Production of exophthalmos in Fundulus heteroclitus by triiodothyronine and desiccated thyroid. Endocrinology, 60 : 390, 1957.*
- 18) Brunish, R.: *The production of experimental exophthalmos, Endocrinology, 62 : 437, 1958.*
- 19) Aterman, K.: *Cortisone and experimental exophthalmos, Lancet, 1 : 1, 143 & 1145, 1952.*
- 20) Smelser, G.K. & Ozanics, V.: *Relation of steroid hormone to the development of experimental exophthalmos, Am. J. Ophth., 34 (May, Pt, 2) : 87, 1951.*
- 21) D' Angelo, S.A.; Stevens, C.E.; Paschkis, K.E. & Cantarow, A.: *Influence of cortisone on thyroid-pituitary interaction in normal and goiterous rats, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 83 : 181, 1953.*
- 22) Sucic, M. & Kovacic, N.: *Results of therapy of malignant endocrine exophthalmos with cortisone. Med. Wschr., 102 : 282, 1960.*
- 23) Jallut, O. & Galdetti, P. M.: *Malignant exophthalmos. Schw. Med. Wschr., 90 : 939, 1960.*
- 24) Boas, N.F & Scow, R.O.: *Apparent exophthalmos in the rat following cortisone treatment or thyroidectomy. Endocrinology, 55 : 148, 1954.*
- 25) McGill, D. A.: *Investigation into endocrine exophthalmos, Quart. J. Med., 29 : 423, 1960.*
- 26) Day, R.M. & Nelson, R.: *Exophthalmos inhibiting factor in normal human serum, Am. J. Ophth., 50 : 1193, 1960.*