

抗癌劑 Busulfan 이 白鼠胎仔에 미치는 影響

The Effect of Busulfan on the Developing Rat Fetuses

서울대학교 醫科大學 解剖學教室
<指導 李 洸 鎬 副教授>

姜 在 福

I. 緒 論

Busulfan 은 大端히 反應性이 강한 alkyl 化劑의 하나로서 DAN 에 cross-link 를 형성함으로써 細胞分裂을 抑制하는 藥物이다. 이같은 alkyl 化劑들은 單성백혈병, 임파종, 유방 및 난소암의 치료에 효과가 있어 Busulfan 이들 惡性腫腸의 治療劑로서 使用된 以後 그 副作用에 關心이 커져 많은 研究者들이 여기에 關與하게 되었다.

即 Newson(1955)과 Merskey(1956)가 白血病과 Busulfan 에 關한 研究結果를 報告한 後 이 方面의 課題가 研究對象으로 浮現되어 Cramblett(1958), Diamond(1960), Kameyama(1965), Forsberg(1966), Alexandrov(1966), Brent(1967), Negrini(1967), Machado(1967), Djaldetti(1968), Uhl(1969), Littler(1970), Maed(1970), Dunn(1970), Burns(1970), Debeljik(1971), Albrecht(1971), Weingarten(1971), Gollerkeri(1971), Kirschner(1971)등에 依한 研究報告를 볼 수 있다. 그러나 이러한 報告中 大部分은 白血病에 關係되는 報告뿐이며 단지 Diamond(1960)가 白血病을 가진 어머니에게 임신 期間中 계속 Busulfan 治療를 한 結果 1336gm 의 新生兒를 얻었다는 報告, Brent(1967)가 Busulfan 이 子宮內發育不全을 가져온다는 報告 및 Warkany(1971)가 Busulfan 治療後 1077gm 의 新生兒를 얻었다는 報告가 畸形學的으로 다른 것이며 純粹히 實驗畸形學的으로 다른 報告는 드물다. 여기에 著者는 Busulfan 을 催畸原으로 使用하여 畸形學上의 諸問題를 追求하였다.

Sprague-Dawley 系의 白鼠를 實驗動物로 使用하여 1 日 1회 3日 經口投與하되 體重 kg 當 5mg 의 Busulfan 을 投與한 群과 體重 kg 當 10mg 의 Busulfan 을 投與한 群과 體重 kg 當 15mg 의 Busulfan 을 投與한 群의 3群으로 크게 나누었으며 投與時期는 器管形成期의 바로 前부터 胎仔期의 初期까지 即 第6日에서 第13日사이로

하였다. Busulfan 이 生存白鼠胎仔에 어떠한 外形異常을 誘發시키는 가를 調査하고 나아가 胎仔 生存率, 生存胎仔의 體重變化, 胎仔腦의 重量, 胎仔腦의 最大長經, 胎仔腦의 最大中經, 黃體數등을 調査하여 多少의 知見을 얻었으므로 여기에 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

實驗에 使用한 動物은 本實驗室에서 飼育한 體重 200 gr 內外의 Sprague-Dawley 系의 處女白鼠이며 飼料 및 水分은 無制限으로 供給하였다.

交配方法은 雌性白鼠의 發情期를 標準陰塗抹法으로 判斷하였으며 雄性白鼠와 同居시키고 다음날 아침 臍檢을 認定하면 妊娠으로 判定하고 이날을 妊娠 第1日로 하였다.

體重 kg 當 5mg 의 Busulfan(1:4-dimethanesulfonox-ybutane)을 三회에 걸쳐 經口 投與한 群과 體重 kg 當 10mg 의 Busulfan 을 三回 經口 投與한 群과 Busulfan 을 體重 kg 當 15mg 씩 三회에 걸쳐 投與한 群으로 나누었으며 以上の 處置를 行한 實驗動物을 더 仔細히 分類하면 다음과 같다.

第Ⅰ群: 正常對照群으로서 妊娠後 何等處置를 하지 않은 群.

第Ⅱ群: 妊娠 第6日, 第8日, 第10일에 體重 kg 當 5mg 의 Busulfan 을 經口 投與한 群.

第Ⅲ群: 妊娠 第7日, 第9日, 第11일에 體重 kg 當 5mg 의 Busulfan 을 經口 投與한 群.

第Ⅳ群: 妊娠 第8日, 第10日, 第12일에 體重 kg 當 5mg 의 Busulfan 을 經口 投與한 群.

第Ⅴ群: 妊娠 第9日, 第11日, 第13일에 體重 kg 當 5mg 의 Busulfan 을 經口 投與한 群.

第Ⅵ群: 妊娠 第6日, 第8日, 第10일에 體重 kg 當 10mg 의 Busulfan 을 經口 投與한 群.

第Ⅶ群: 妊娠 第7日, 第9日, 第11일에 體重 kg 當 10

Table 1.

Incidence of Live fetuses

Group	Total	Date of Treatment	Doses(mg/kg B. W)	No. of live fetuses	Dead fetuses	P. R.
I	49	Control	Control	46(94%)	0	3 (6%)
II	67	6, 8, 10th	5	49(74%)	8(12%)	10(15%)
III	49	7, 9, 11th	5	36(73%)	6(12%)	7(14%)
IV	42	8, 10, 12th	5	32(76%)	4(10%)	6(14%)
V	52	9, 11, 13th	5	41(79%)	3 (6%)	8(15%)
VI	65	6, 8, 10th	10	45(69%)	9(14%)	11(17%)
VII	65	7, 9, 11th	10	44(68%)	9(14%)	12(19%)
VIII	48	8, 10, 12th	10	37(77%)	6(13%)	5(10%)
IX	71	9, 11, 13th	10	50(70%)	10(14%)	11(16%)
X	74	6, 8, 10th	15	43(58%)	13(18%)	18(24%)
XI	67	7, 9, 11th	15	39(58%)	12(18%)	16(24%)
XII	70	8, 10, 12th	15	42(60%)	16(23%)	12(17%)
XIII	69	9, 11, 13th	15	48(70%)	11(16%)	10(15%)

mg의 Busulfan을 經口 投與한 群.

第VII群: 妊娠 第8日, 第10日, 第12日에 體重 kg 當 10mg의 Busulfan을 經口 投與한 群.

第IX群: 妊娠 第9日, 第11日, 第13日에 體重 kg 當 10mg의 Busulfan을 經口 投與한 群.

第X群: 妊娠 第6日, 第8日, 第10日에 體重 kg 當 15mg의 Busulfan을 經口 投與한 群.

第XI群: 妊娠 第7日, 第9日, 第11日에 體重 kg 當 15mg의 Busulfan을 經口 投與한 群.

第XII群: 妊娠 第8日, 第10日, 第12日에 體重 kg 當 15mg의 Busulfan을 經口 投與한 群.

第XIII群: 妊娠 第9日, 第11日, 第13日에 體重 kg 當 15mg의 Busulfan을 經口 投與한 群.

實驗方法은 以上과 같이 分類한 各群의 實驗動物을

妊娠 第22日에 ether 麻醉下에 開腹, 胎仔를 摘出하여 胎仔生存率, 生存胎仔의 體重變化, 胎仔의 腦의 무게와 크기, 外形異常, 母體의 黃體數등을 畸形學的으로 調査하였다.

III. 研究成績

1. 胎仔 生存率

胎仔의 總數는 生存胎仔數, 死亡胎仔數 및 殘存胎盤數의 合計로 하였으며 胎仔의 生存率은 胎仔總數에 對

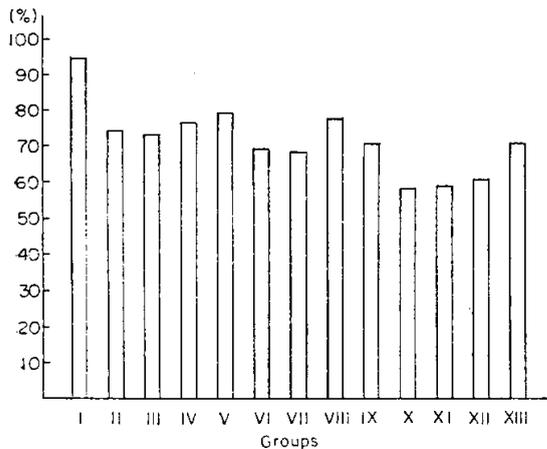


Fig. 1. Incidence of live fetuses of Rat.

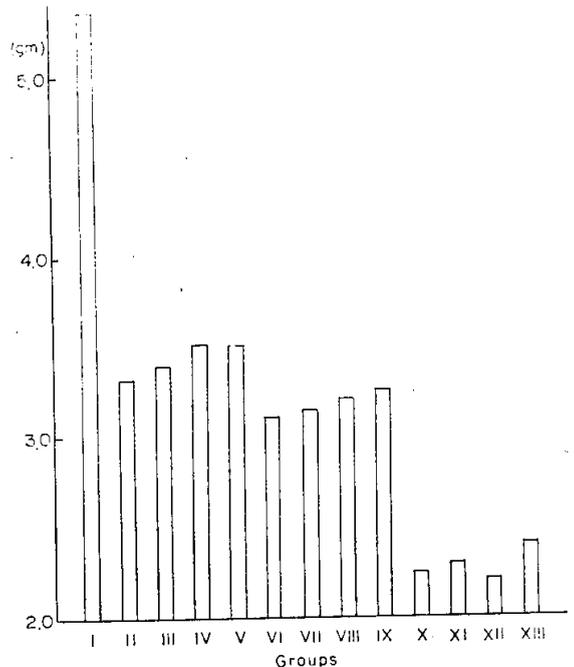


Fig. 2. Average body weight of rat fetuses.

Table 2. Body Weight (gm)

Groups	N	Date of Treatment	Doses (mg/kg B. W)	M± <i>r</i>
I	46	Control	Control	5.35±0.04
II	49	6, 7, 10th	5	3.31±0.46
III	36	7, 9, 11th	5	3.40±0.09
IV	32	8, 10, 12th	5	3.51±0.25
V	41	9, 11, 13th	5	3.50±0.36
VI	45	6, 8, 10th	10	3.10±0.38
VII	44	7, 9, 11th	10	3.13±1.54
VIII	37	8, 10, 12th	10	3.20±0.81
IX	50	9, 11, 13th	10	3.25±0.12
X	43	6, 8, 10th	15	2.24±0.63
XI	39	7, 9, 11th	15	2.30±0.46
XII	42	8, 10, 12th	15	2.21±0.32
XIII	48	9, 11, 13th	15	2.41±0.64

Table 3. Brain Weight. (gm)

Groups	N	Date of Treatment	Doses (mg/kg B. W)	M± <i>δ</i>
I	46	Control	Control	0.235±0.024
II	49	6, 8, 10th	5	0.207±0.018
III	36	7, 9, 11th	5	0.185±0.027
IV	32	8, 10, 12th	5	0.169±0.029
V	41	9, 11, 13th	5	0.170±0.025
VI	45	6, 8, 10th	10	0.161±0.039
VII	44	7, 9, 11th	10	0.159±0.019
VIII	37	8, 10, 12th	10	0.141±0.058
IX	50	9, 11, 13th	10	0.131±0.029
X	43	6, 8, 10th	15	0.120±0.018
XI	39	7, 9, 11th	15	0.103±0.034
XII	42	8, 10, 12th	15	0.112±0.021
XIII	48	9, 11, 13th	15	0.101±0.026

한 百分率로 表示하였다. 第1表 및 第1圖에서 보는바와 같이 正常對照群의 胎仔 生存率은 94%였으며 Busulfan 投與群에서는 第II群이 74%, 第III群이 73%, 第IV群이 76%, 第V群이 79%, 第VI群이 69%, 第VII群이 68%, 第VIII群이 77%, 第IX群이 70%, 第X群이 58%, 第XI群이 53%, 第XII群이 60%, 第XIII群이 70%였다.

正常對照群에 비해 處置群의 胎仔 生存率은 낮으며 kg

當 5mg 投與群(II, III, IV, V群)보다는 kg 當 10mg 投與群(VI, VII, VIII, IX群)이 kg 當 10mg의 投與群보다는 kg 當 15mg(X, XI, XII, XIII群)의 投與群의 胎仔 生存率이 더욱 낮으며 投與時期가 빠를수록 生存率이 낮음을 보여 주고 있다.

2. 生存胎仔의 體重變化

各群의 生存胎仔의 平均體重은 第2表 및 第2圖에 表示하였다.

正常對照群의 胎仔 平均體重 5.35gm 에 比하면 體重 kg 當 5mg의 投與群이나 體重 kg 當 10mg 投與群이나 體重 kg 當 15mg 投與群이 다 같이 相當한 體重 減少

Table 4. Brain Length (cm)

Groups	N	Date of Treatment	Doses (mg/kg B. W)	M± <i>δ</i>
I	46	Control	Control	1.287±0.033
II	49	6, 8, 10th	5	1.123±0.023
III	36	7, 9, 11th	5	1.130±0.063
IV	32	8, 10, 12th	5	1.012±0.051
V	41	9, 11, 13th	5	1.110±0.024
VI	45	6, 8, 10th	10	0.902±0.048
VII	44	7, 9, 11th	10	0.905±0.042
VIII	37	8, 10, 12th	10	0.801±0.072
IX	50	9, 11, 13th	10	0.706±0.041
X	43	6, 8, 10th	15	0.655±0.061
XI	39	7, 9, 11th	15	0.511±0.072
XII	42	8, 10, 12th	15	0.412±0.035
XIII	48	9, 11, 13th	15	0.401±0.061

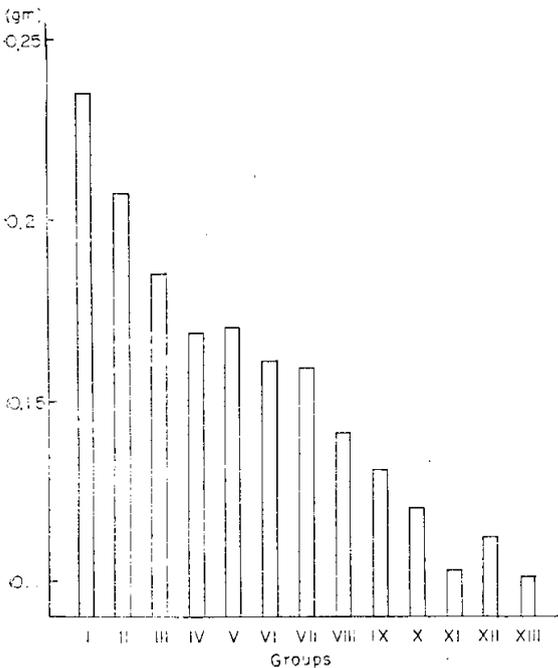


Fig. 3. Average Weight of brain.

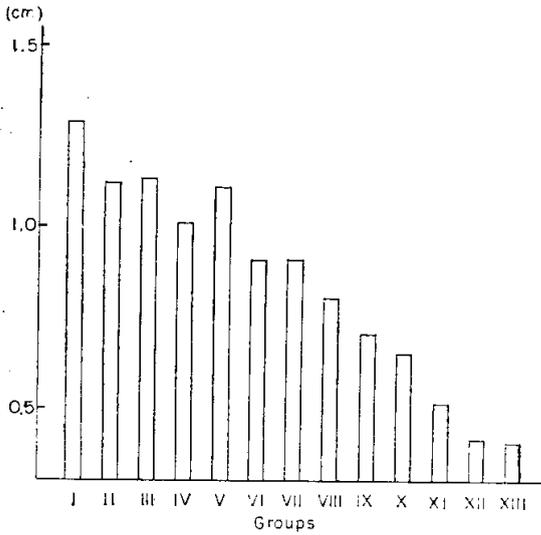


Fig. 4. Brain length of rat fetuses.

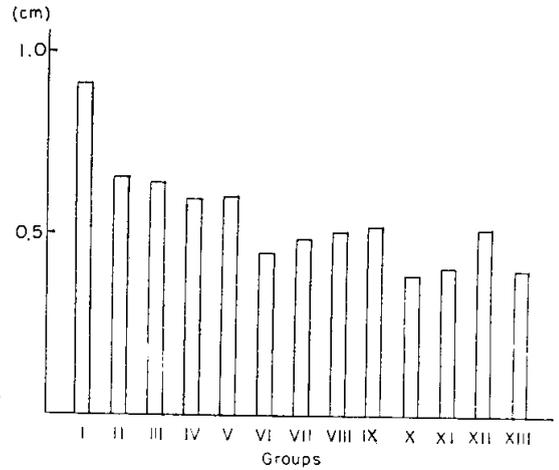


Fig. 5. Brain breadth of rat fetuses.

를 보여 주고 있으며 그 減少率이 體重 kg 當 投與量에 比例하였으므로 特히 kg 當 15mg 投與群의 體重減少는 顯著하였다. 即 體重 kg 當 5mg 投與群에 있어서는 第 II 群이 3.31gm, 第 III 群이 3.40gm, 第 IV 群이 3.51gm, 第 V 群이 3.50gm 이며 體重 kg 當 10mg 投與群에 있어서는 第 VI 群이 3.10gm, 第 VII 群이 3.13gm, 第 VIII 群이 3.20gm, 第 IX 群이 3.25gm 이며 體重 kg 當 15mg 投與群에서는 第 X 群이 2.24gm, 第 XI 群이 2.30gm, 第 XII 群이 2.21gm, 第 XIII 群이 2.41gm 이다. Kg 當 15mg 投與群의 顯著한 減少率은 特記할만하다.

3. 胎仔腦의 重量

Groups	N	Date of Treatment	Doses (mg/kg B. W)	M±δ
I	46	Control	Control	0.913±0.038
II	49	6, 8, 10th	5	0.651±0.034
III	36	7, 9, 11th	5	0.641±0.042
IV	32	8, 10, 12th	5	0.590±0.021
V	41	9, 11, 13th	5	0.566±0.031
VI	45	6, 8, 10th	10	0.443±0.042
VII	44	7, 9, 11th	10	0.482±0.043
VIII	37	8, 10, 12th	10	0.501±0.024
IX	50	9, 11, 13th	10	0.512±0.034
X	43	6, 8, 10th	15	0.382±0.030
XI	39	7, 9, 11th	15	0.401±0.022
XII	42	8, 10, 12th	15	0.510±0.031
XIII	48	0, 11, 13th	15	0.399±0.058

胎仔腦의 重量은 第3表 및 第3圖에 表示한 바와 같다. 即 體重 kg 當 5mg 을 投與한 群에서는 第 II 群이 0.207 gm, 第 III 群이 0.185gm, 第 IV 群이 0.169gm, 第 V 群이 0.170gm 이며 體重 kg 當 10mg 을 投與한 群에서는 第 VI 群이 0.161gm, 第 VII 群이 0.159gm, 第 VIII 群이 0.141 gm, 第 IX 群이 0.131gm 이며 體重 kg 當 15mg 을 投與한 群에서는 第 X 群이 0.120gm, 第 XI 群이 0.103gm, 第 XII 群이 0.112gm, 第 XIII 群이 0.101gm 이다. 正常對照群 0.235gm 과 體重 kg 當 15mg 의 投與群과의 差는 크다.

4. 胎仔腦의 最大長徑

各 實驗群의 胎仔腦의 最大長徑은 第4表 및 第4圖에 表示된 바와 같다.

Groups	N	Date of Treatment	Doses (mg/kg B. W)	No. of malformed fetuses
I	46	Control	Control	0
II	49	6, 8, 10th	5	3 (6%)
III	36	7, 9, 11th	5	0
IV	32	8, 10, 12th	5	1 (3%)
V	41	9, 11, 13th	5	0
VI	45	6, 8, 10th	10	4 (9%)
VII	44	7, 9, 11th	10	3 (7%)
VIII	37	8, 10, 12th	10	2 (5%)
IX	50	6, 11, 13th	10	0
X	43	6, 8, 10th	15	11(26%)
XI	39	7, 9, 11th	15	9(23%)
XII	42	8, 10, 12th	15	6(14%)
XIII	48	9, 11, 13th	15	4 (8%)

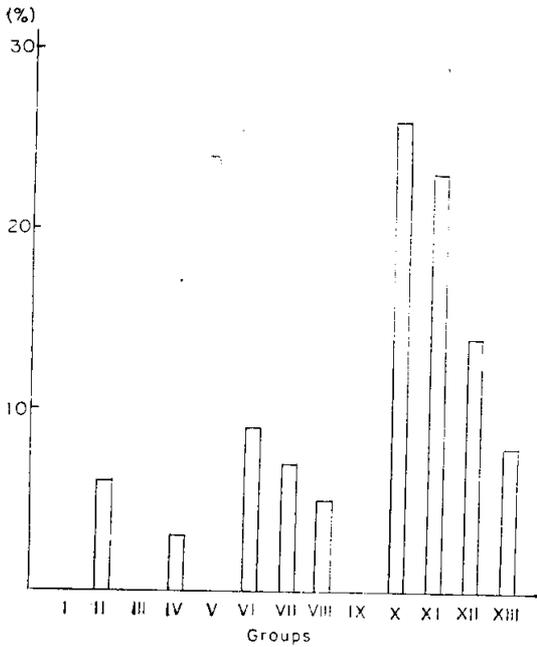


Fig. 6. Incidence of anomalies of rat fetuses treated with busulfan.

體重 kg 當 5mg 을 投與한 群에서는 第Ⅱ群이 1.123cm, 第Ⅲ群이 1.130cm, 第Ⅳ群이 1.012cm, 第Ⅴ群이 1.110cm 이며 體重 kg 當 10mg 投與群에서는 第Ⅵ群이 0.902cm, 第Ⅶ群이 0.905cm, 第Ⅷ群이 0.801cm, 第Ⅸ群이 0.706cm 이며 體重 kg 當 15mg 의 投與群에서는 第Ⅹ群이 0.655cm, 第Ⅺ群이 0.551cm, 第Ⅻ群이 0.412cm, 第Ⅼ群이 0.401cm 이어서 正常對照群의 最大長徑

1.287cm 에 比하면 體重 kg 當 15mg 을 投與한 群에서 의 減少率은 顯著하다.

5. 胎仔腦의 最大幅徑

胎仔腦의 最大幅徑에 關한 成績은 第5表 및 第5圖에 表示한 바와 같다.

體重 kg 當 5mg 을 投與한 群에서는 第Ⅱ群이 0.651cm, 第Ⅲ群이 0.641cm, 第Ⅳ群이 0.590cm, 第Ⅴ群이 0.596cm 이며 體重 kg 當 10mg 을 投與한 群에서는 第Ⅵ群이 0.443cm, 第Ⅶ群이 0.482cm, 第Ⅷ群이 0.501cm, 第Ⅸ群이 0.512cm 이며 體重 kg 當 15mg 을 投與한 群에서는 第Ⅹ群이 0.382cm, 第Ⅺ群이 0.401cm, 第Ⅻ群이 0.510cm, 第Ⅼ群이 0.399cm 이며 正常對照群의 0.913cm 에 比하면 큰 減少率을 보여 주고 있다.

6. 外形異常

妊娠 第22日에 開腹하고 胎仔를 摘出하여 弱擴大顯微鏡下에서 外形異常의 有無를 調査하였으며 그 出現頻度를 第6表 및 第6圖에 表示하였다. 外形異常으로는 頭部異常, 四肢異常, 眼異常, 尾異常 등이 觀察되었다.

體重 kg 當 5mg 의 投與群에서는 第Ⅱ群에서 6%, 第Ⅳ群에서 3%의 異常을 보였을 뿐이며 體重 kg 當 15mg 을 投與한 群에서는 第Ⅵ群이 9%, 第Ⅶ群이 7%,

尾異常은 短尾와 曲尾였으나 大部分 短尾였다. 出現率이 다음으로 많은 것이 四肢 및 指異常이며 發育不全이나 前肢異常 또는 後肢異常인데 特히 海豹狀畸形의 出現은 特徵的이라 하겠다. 또한 指異常 가운데 指趾癒合의 같은 出現은 Busulfan 을 催畸原으로 使用하였을 때의 特殊한 例라 하겠다.

頭部異常은 小頭症과 腦水腫이었으며 眼異常 亦是 海豹狀畸形과 더부러 Busulfan 投與時의 特徵的인 것이라

Table 7.

Incidence of Anomalies

Group	N	Tail	Paw	Head	Mouth	Eye	Edema	Combined anomalies
I	0							0
II	3	2	1					0
III	0							0
IV	1	1						0
V	0							0
VI	4	3	2	1		1		2(50%)
VII	3		2	1			1	1(33%)
VIII	2	2			1			1(50%)
IX	0							0
X	11	6	4	3	2	1	2	5(45%)
XI	9	4	3	2		1	2	4(44%)
XII	6	3	3				1	3(50%)
XIII	4	2	1	2			1	2(50%)

Table 8.

The Number of Corpus Luteum

Groups	N	Late of Treatment	Losses (mg/kg B. W)	Left	Right
I	46	Control	Control	6.4±0.77	6.1±1.02
II	49	6, 8, 10th	5	5.6±0.67	6.6±0.84
III	36	7, 9, 11th	5	5.5±0.56	6.8±1.15
IV	32	8, 10, 12th	5	7.0±1.23	7.4±0.84
V	41	9, 11, 13th	5	5.6±0.87	5.6±1.65
VI	45	6, 8, 10th	10	6.2±1.63	8.4±1.20
VII	44	7, 9, 11th	10	8.0±0.85	8.6±1.25
VIII	37	8, 10, 12th	10	7.1±1.25	6.3±0.83
IX	50	9, 11, 13th	10	5.4±1.41	5.6±0.93
X	43	6, 8, 10th	15	5.8±1.26	6.7±0.86
XI	39	7, 9, 11th	15	6.9±2.49	7.1±1.62
XII	42	8, 10, 12th	15	8.0±1.02	7.2±1.63
XIII	48	9, 11, 13th	15	7.4±1.41	6.7±2.05

第Ⅷ群이 5%의 外形異常을 보여주고 있고 體重 kg 당 15mg 投與群에서는 第Ⅹ群이 26%, 第Ⅺ群이 23%, 第Ⅻ群이 14%, 第Ⅼ群이 8%의 出現頻度を 보여 주고 있어 體重 kg 당 15mg의 投與群에서의 異常出現頻도는 매우 크다. 이것은 外形異常을 大體的으로 觀察한 것이나 外形異常을 部位別로 檢討하여 보면 尾異常이 가장 높은 出現率을 나타내고 있다.

하겠다. 口異常은 長口吻가 特色이었다.

胎仔에 있어서 外形異常이 한 種類에 그치는 예보다 數種의 異常을 併伴하고 있는 例가 많았다. 胎仔가 둘 이상의 異常을 併伴한 例는 第7表에 表示한 바와 같다.

7. 黃體數

母體를 開腹하여 胎仔를 摘出した 後에 左右卵巢別 黃體數를 調査한 다음 그 平均値를 算出하여 第8表에 表示하였다. 正常對照群이나 實驗群에서 거의 差를 볼 수 없었다.

IV. 考 按

Busulfan 이 惡性疾患 治療劑로서 널리 使用되면서 그 副作用에 關해 많은 研究者들이 關心을 기울이게 되었다.

Newson(1955)이나 Merskey(1956) 및 Cramblett(1958)가 白血病과 妊娠에 關한 研究結果를 發表한 以來 白血病의 治療劑인 Busulfan 의 副作用이 많은 學者들의 關心을 높이게 되어 Diamond(1960), Negrim(1967), Machado(1967), Djaldetti(1968), Uhl(1969), Littler(1970), Burns(1970), Albrecht(1971), Gollerkeren(1971), Kirechner(1971)등이 臨床治療상의 여러 가지 副作用에 關해 研究하였다. 例를들어 Diamond 는

白血病을 가진 어머니를 妊娠동안 계속 Busulfan 治療를 하였든바 40週의 妊娠後에 1336gm의 發育不全된 新生兒를 낳았다는 報告를 하였으며 Brent 및 Jensh도 이런類의 劑製가 子宮內 發育不全을 가져오고 催畸性を 함유한다고 하였으며 Warany(1971)도 Busulfan 의 治療를 妊娠中에 받은 어머니에게서 단지 1077gm의 發育不全兒가 出生되었다는 報告를 하였다. 한편 Kameyama(1965), Forsberg(1969), Alexandrov(1966), Maed(1970), Dunn(1970), Debeljik(1971), Weingarten(1971), Choi(1972)등은 實驗動物을 使用하여 Busulfan 등에 依한 影響을 研究하였다.

1968年 Jacobson 은 쥐에 있어서 着床前期는 受精後부터 妊娠 第5日까지 器官形成期는 妊娠 第6日에서 妊娠 第13日까지이고 胎仔期는 妊娠 第14日부터라 하였다. 本實驗에서 Busulfan 投與를 妊娠 第6日에서 第13日까지로 定한 것은 器官形成期를 參考로 한 것이며 1日 1回 3日 投與한 것은 着床前期의 末期에서 器官形成期를 거쳐 胎仔期의 極初期에 이르는 동안의 "Critical period"를 廣範圍하게 調査하기 위한 것이다.

生存胎仔의 體重變化는 第2表 및 第2圖에 表示한 바와 같이 Busulfan 의 投與量에 比例해서 減少함을 보여 投與時期가 빠를수록 體重在 減少하고 있는데 이는 崔(1972)의 1回 經口 投與時와는 正反對의 現象을 나타내고 있으며 正常對照群에 比해서는 勿論 崔의 1回 投與時에 比해 顯著한 減少를 보여 주고 있다.

胎仔腦의 重量은 體重 kg 당 投與量에 比例해서 減少하고 있으며 體重 kg 당 15mg의 3回 投與群에서의 減少率은 相當히 크다. 이것 또한 正常對照群과의 差異는 勿論, 崔의 1回 投與時보다도 顯著한 減少를 보여 주고

있다. 또한 그 減少가 段階的인 減少를 보여 주고 있는데 이는 器官 形成期에서 投與時期가 늦을 수록 腦形成 時期와 깊은 關連이 있는 것 같다. 體重 kg 當 15mg 의 Busulfan 을 投與한 群을 例로 들어 살펴보면 正常對照 群의 0.235gm 에 비해 第Ⅷ群의 腦의 무게는 0.101gm 에 不過하다.

胎仔腦의 最大長徑은 第4表 및 第4圖에 表示한 바와 같는데 正常對照群의 1.287cm 에 비해 第Ⅱ群이 1.123 cm, 第Ⅳ群은 1.012cm 이며 體重 kg 當 15mg 投與群 가운데서 第Ⅹ群은 0.655cm, 第Ⅻ群은 0.401cm 이며 이는 1回 投與群에 비해서도 相當한 減少를 보여 주고 있다. 그러나 같은 量의 投與群사이의 差는 그렇게 크지는 않으나 投與時期가 늦어 질수록 더 減少되는 傾向이 있다.

胎仔腦의 最大幅徑에 關한 實驗結果는 第5表 및 第5圖에 表示한 바와 같다. 그 結果를 살펴보면 正常對照 群의 0.913cm 에 비해 體重 kg 當 5mg 3回 投與群가운데서 第Ⅴ群의 0.596cm 도 相當한 減少를 보여 주고 있는 예이나 體重 kg 當 15mg 3回 投與群中에서 第Ⅻ群의 0.399cm 와의 差는 顯著하다. 이는 1回 投與群에 비해서도 相當한 減少를 보여주고 있다.

胎仔의 總數는 正常對照群의 胎仔生存率 94%에 비해 第Ⅰ群의 60%나 第Ⅹ群, 第Ⅺ群의 58%등은 相當히 減少된 結果라 하겠으며 投與時期가 빠를수록 胎仔生存率 이 낮아짐을 보여 주고 있다. 이 生存率은 1回 大量 投與群보다는 그 率이 若干 높은 傾向을 보여 주고 있다.

動物實驗에서의 外形異常은 實驗動物의 種類 및 實驗 方法에 따라 다르기 때문에 詳細히 比較하기는 어려우나 本實驗의 條件과 時期로서는 第6表 및 第6圖에 表示한 바와 같다. 即 크게 나누어 頭部異常, 四肢異常, 尾異常, 口吻異常 및 指異常과 浮腫등으로 分類할 수 있다.

勿論 우리가 어떤 藥製의 生物學的인 影響을 體重當의 條件을 基礎도 하여 比較하기란 어렵다. 왜냐하면 例를들어 쥐에 있어서 害없는 分量의 Busulfan 이 사람에게 致死量이 될 수 있고, 母體에는 全然 害가 없는 分量도 胎仔에게 有毒할 수 있으며 催畸原으로 作用할 수 있다. Busulfan 을 投與한 本實驗結果를 살펴보면 體重 kg 當 5mg 3回 投與群이나 體重 kg 當 10mg 3回 投與群에 비해 體重 kg 當 15mg 3回 投與群에서는 外形異常의 出現率이 急히 높아짐을 볼 수 있었다. 即 第Ⅱ群에서 6%, 第Ⅳ群에서 1%, 第Ⅵ群에서 9%, 第Ⅶ群에서 7%, 第Ⅷ群에서 5%, 第Ⅹ群에서 26%, 第Ⅺ群에서 23%, 第Ⅻ群에서 14%, 第Ⅻ群에서 8%의 出現率을 보여 주고 있다. 投與量이 많을수록 投與時期가 빠를수록 催畸效果가 큼을 나타내고 있다. 特히 第Ⅹ群에

서의 26% 出現率은 Busulfan 이 강한 催畸原임을 暗示하고 있다. 第7表를 살펴보면 外形異常이 하나만 나타난 例보다 여러개의 外形異常이 併伴하는 境遇가 많다. 即 第Ⅵ群에서 50%, 第Ⅹ群에서 45%, 第Ⅺ群에서 44%, 第Ⅻ群에서 50%, 第Ⅻ群에서 50%의 併伴率을 보여 주고 있다. 이는 Busulfan 을 催畸原으로 使用한 實驗의 特色이라 하겠는데 그 가운데서도 小肢症, 指趾癒合 및 浮腫의 併伴은 特徵的인 것이었다. 尾異常에서는 短尾가 제일 많았고 Russell(1956)에 依하면 短尾의 成因이 化骨時 尾椎數의 減少에 依한 것이라 하였다. 여기에 나타난 短尾는 거의 無尾에 가까운 것이 많았다. 頭部異常도 浮腫을 併伴한 境遇外에는 小頭症이 많았는데 發育遲延과 併伴된 例가 많음을 보면 이는 腦의 發育에 影響이 없는 發育遲延은 生後 比較的 正常的인 發育을 할 수 있다는 說에 比하면 Busulfan 投與에 依한 發育遲延은 腦에 影響을 주는 例가 많지 않은가 생각된다. 나타난 形態學的 異常가운데 長口吻도 特記할 만한 것이라 할 수 있다.

第8表에서 表示된 바와 같이 黃體數는 催畸原의 影響을 받지 않는다.

끝으로 遺傳的인 性向이 많은 息순이 없는 것은 注意할만해 事實이다.

V. 結 論

著者는 Busulfan 이 白鼠胎仔에 미치는 影響을 研究코자 Sprague-Dawley系 白鼠를 使用하여 妊娠 白鼠에 Busulfan 을 3回 經口 投與하여 觀察하였는데 投與量과 投與時期에 따라 13群으로 나누었다.

妊娠 第22日에 開腹하고 胎仔를 摘出하여 胎仔의 外形異常有無 및 그 種類를 觀察하고 아울러 生存胎仔의 體重變化, 腦의 무게, 腦의 最大長徑, 腦의 最大幅徑, 生存率 및 黃體數를 調査하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 胎仔生存率은 모든 Busulfan 投與群에서 낮았으며 特히 體重 kg 當 15mg 의 投與群에서는 顯著히 낮았고 投與時期가 빠를수록 生存率은 낮았다.

2. 生存胎仔의 體重變化는 모든 群에서 顯著한 減少를 보여 주었는데 投與量과 投與時期에 比例해서 段階的인 減少를 보여 주고 있었다.

3. 腦重量의 減少率은 投與量과 投與時期時期에 따라 段階的인 減少를 보여주고 있었다.

4. 投與量이 많을수록 胎仔腦의 最大長徑의 減少率은 높으며 特히 體重 kg 當 15mg 의 Busulfan 을 投與한 群의 胎仔腦의 最大長徑의 減少率은 컸다.

5. 胎仔腦의 最大幅徑은 體重 kg 當 Busulfan 의 投與量과 投與時期에 따라 段階的인 減少를 보여 주고 있

었다.

6. 外形異常의 出現率은 投與量과 投與時期에 따라 나타나고 있는데 頭部異常, 四肢異常, 指異常, 尾異常, 眼異常을 볼 수 있다. 第X群에서 26%의 出現率을 보이고 있는데 이는 Busulfan이 強한 催畸原임을 말해 주고 있다. 大部分의 境遇 여러 異常을 併伴하고 있었다.

7. 黃體數는 Busulfan 投與와 無關하였다.

ABSTRACT

The Effect of Busulfan on the Developing Rat Fetuses.

Joe Bok Kang, M.D.

Department of Anatomy, College of Medicine,
Seoul National University.

(Director: Prof. Kwang Ho Lee, M.D.)

Sprague-Dawley strain rats were administered orally three times with the doses of Busulfan 5mg/kg body weight, 10mg/kg body weight and 15mg/kg body weight on the 6th 8th 10th day of gestation, 7th 9th 11th day of gestation and 9th 11th 13th day of gestation respectively.

Gross anomalies in the fetuses, weight, length and breadth of the brain of the live fetuses, survival rate of fetuses, changes of fetal body weight and numbers of corpus luteum of maternal ovaries were studied after hysterectomy on the 22nd day of gestation and the following results were obtained.

1. Most obvious decrease of the survival rate was observed in the group of 15mg/kg body weight. Gradual decrease of survival rate was in inverse accordance with days of gestation.

2. Significant changes of fetal body weight came out in the results of all groups treated with the administration of the Busulfan, and in the earlier administration groups, the more obvious decrease of the fetal body weight were observed.

3. Gradual decrease of the weight of the brain appeared in all treated groups in accordance with the doses administered, and most notable decrease resulted in the group which was administered with the dose of 15mg/kg body weight.

4. Obvious reduction of the length of the fetal

brain took place in all groups. And the results were in proportion to the doses.

5. Gradual reduction of the breadth of the fetal brain was observed in proportion to the doses and according to the period of gestation treated with Busulfan.

5. The gross anomalies were appeared in all treated groups, and those were short tail, growth retardation, microcephalus, hydrocephalus, micromelia, abnormal number of digits, syndactyli and edema.

The abnormal tails were observed in the highest incidence throughout the anomalies appeared in the fetuses of experimental groups. Combined anomalies of micromelia, syndactylia and edema were characteristic.

7. Number of the corpus luteum was not effected by the administration of the Busulfan.

REFERENCES

1. Newson, A. A., Bruce, C. H., Tabler, J. W., and Strother, W. K.: *Leukemia and pregnancy. J. Obst. & Gynec.*, 69:892, 1955.
2. Merskey, C., and Regal, W.: *Pregnancy in acute leukemia treated with 6-mercapto purine Lancet*, 2:1268, 1956.
3. Cramblett, H. G., Friedman, J. L., and Najjar, S.: *Leukemia in an infant born of a mother with leukemia. New England J. Med.*, 259:727, 1958.
4. Diamond, I., Anderson, M. M., and McCreddie, S. R.: *Transplacental Transmission of Busulfan (Myleran) in a mother with Leukemia: Production of Fetal Malformation and Cytomegaly. Pediatrics* 25:85-60. 1960.
5. Kameyama, Y.: *Effect of myleran on the skeletal system in the rat and mouse embryos. Ann. Rep. Res. Inst. Environ. Med. Nagoya* 14:61-78, 1965.
6. Forsberg, J. G.: *The effect of prenatally administered Busulfan on rat gonads. Biol. neonat.* 10:180-92, 1966.
7. Alexandrov, V. A.: *Analysis of the lethal effect of "Myleran" on rat embryos. Nature* 209:1215-6 1966.
8. Negrim, A. C.: *Hyperlymphocytosis in a case of*

- busulfan induced medullar aplasia in chronic myeloid leukemia. Chromosome and functional study. Pathologica 59:407-10, 1967.*
9. Machado, J.P.: *Busulfan treatment during Pregnancy. JAMA 20:272, 1967.*
 10. Toxic effect of busulfan: *Lancet 1:854, 20, 1968.*
 11. Djaldetti, M.: *Myasthenia gravis in a patient with chronic myeloid leukemia treated by busulfan. Blood 32:336-40, 1968.*
 12. Uhl, N.: *Busulfan treatment in Pregnancy. A Case report with chromosome studies, German Med. Monthly 14:383-7, 1969.*
 13. Littler, W.A.: *Lung function in patients receiving busulfan. Br. Med. J. 4:530-2, 1970.*
 14. Maed, K.: *Skeletal malformations of the hand and foot in the rat fetus caused by maternal administration of Myleran during pregnancy. Ann. Rep. Res. Inst. Environ. Med. Nagoya Univ. 18:60, 1970.*
 15. Dunn, C.D.: *An apparent discrepancy between the number of colony forming units transplanted and survival of busulphan lethally treated rats. J. Cell physiol. 76:215-23, 1970.*
 16. Burns, W.A., William McFarland, Matthews, M.J.: *Busulfan-induced pulmonary disease. Report of a case and review of the literature. Amer. Rev. Resp. Dis. 101:408-13, 1970.*
 17. Debeljik, L.: *Pituitary gonadotrophin activity in male rats with damage of the germinal epithelium induced by busulphan. J. Reprod. Fertil. 26:247-50, 1971.*
 18. Albrecht, M.: *Aplastic syndrome in myleran overdose. Med. Klin. 66:126-30, 1971.*
 19. Weingarten, P.L.: *Teratogenicity of myleran against muskuloskeletal tissue in the rat. Clin. Orthop. 75:236-47, 1971.*
 20. Gollerkeri, M.P., and shah, G.B.: *Management of chronic myeloid leukemia: A five-year survey with a comparison of oral busulfan and splenic irradiation. Cancer 27:596-601, 1971.*
 21. Kirschner, R.H., and Esterly J.R.: *Pulmonary lesions associated with busulfan therapy of chronic myelogenous leukemia. Cancer 27:1074-80, 1971.*
 22. Brent, R.L., and Jensh, R.P.: *Intra-uterine growth retardation, adv. in Teratology 2:139, 1967.*
 23. Warkany J.: *Congenital Malformation Year Book Med. Publ., 1971.*