

Myleran이 白鼠胎仔에 미치는 實驗畸形學的研究

The Effect of Myleran on Developing Rat Fetuses

서울大學 醫科大學 解剖學教室

李 洪 鎬 · 崔 秉 宇

I. 緒論

惡性疾患 治療劑로서 Myleran이 治療醫學에서 차지하는 位置는 높다. 거기에 따른 關心度가 짙어 점에 따라 그 副作用에 關해 많은 研究者들이 여기에 關與하게 되었다. Newson(1955)과 Merskey(1956)가 白血病과 Myleran에 關한 研究報告를 한以後 이 方面의 課題가 研究對象으로 浮刻되어 Cramblett(1958), Diamond(1960), Kameyama(1965), Forsberg(1966), Alexandrov(1966), 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해 꾸준히 報告되었다. 그러나 이러한 報告中 大部分은 白血病에 關係되는 것이며 純粹히 實驗畸形學의으로 다른 報告는 드물다. 여기에 著者는 Myleran을 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 體重 kg當 20mg의 Myleran을 1回 經口 投與한 群과 體重 kg當 30mg의 Myleran을 1回 經口 投與한 群과 體重 kg當 40mg의 Myleran을 投與한 群의 3群으로 크게 나누었으며 投與時期는 器官形成期의 바로 前부 터 胎仔期의 初期까지 即 第6日에서 第13일 사이로 하였다. 이러한 處置後에 Myleran이 生存白鼠胎仔에 어떠한 外形異常을 誘發하는가를 調查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 最大長徑, 胎仔腦의 最大幅徑, 胎仔의 CRL (Crown Rump Length), 胎仔의 TUD (Trans Unbilical Distance), 黃體數 등을 調査하여 多少의 知見을 얻었음으로 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 200g 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 標準腔塗抹法으로 判斷하였으며 雄性白鼠와 同居시키고 다음날 아침 腹栓을 認定하면 妊娠으로 判定하고 이 날을 妊娠第0日로 하였다.

體重 kg當 20mg의 Myleran(1:4-dimethane-sulphonoxybutane)을 妊娠第6日, 第7日, 第10日, 第11日, 第12日에 一回 經口 投與하였으며 體重 kg當 30mg의 Myleran을 妊娠第9日, 第10日, 第11日, 第13日에 1回 經口 投與하였고 髐重 kg當 40mg의 Myleran을 妊娠第9日, 第10日, 第11日, 第12日, 第13日에 1回 經口 投與하였다.

以上의 處置를 行한 實驗動物을 分類하면 다음과 같다.

第I群: 正常對照群으로서 妊娠後 何等의 處置를 하지 않은 群.

第II群: 妊娠第6日에 髐重 kg當 20mg의 Myleran을 經口 投與한 群.

第III群: 妊娠第7日에 髐重 kg當 20mg의 Myleran을 經口 投與한 群.

第IV群: 妊娠第10日에 髐重 kg當 20mg의 Myleran을 經口 投與한 群.

第V群: 妊娠第11日에 髐重 kg當 20mg의 Myleran을 經口 投與한 群.

第VI群: 妊娠第12日에 髐重 kg當 20mg의 Myleran을 經口 投與한 群.

第VII群: 妊娠第9日에 髐重 kg當 30mg의 Myleran을 經口 投與한 群.

을 經口 投與한 群.

第I群: 妊娠 第10日에 體重 kg 當 30mg 의 Myleran 을 經口 投與한 群.

第II群: 妊娠 第11日에 髐重 kg 當 30mg 의 Myleran 을 經口 投與한 群.

第III群: 妊娠 第13日에 髐重 kg 當 30mg 의 Myleran 을 經口 投與한 群.

第IV群: 妊娠 第9日에 髐重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 經口 投與한 群.

第V群: 妊娠 第10日에 髐重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 經口 投與한 群.

第VI群: 妊娠 第11日에 髐重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 經口 投與한 群.

第VII群: 妊娠 第12日에 髐重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 經口 投與한 群.

第VIII群: 妊娠 第13日에 髐重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 經口 投與한 群.

検査方法은 以上과 같이 分類한 各群의 實驗動物을 妊娠 第21日에 ether 麻醉下에 開腹, 胎仔를 摘出하여 胎仔生存率, 外形異常, 生存胎仔의 髐重變化 및 母體의 黃體數, 胎仔의 腦의 무게와 크기 등을 廣範圍하게 調査하였다.

II. 研究成績

1. 胎仔生存率

胎仔의 總數는 生存胎仔數, 死亡 및 浸軟胎仔數 및 殘存胎盤數의 合計로 하였으며 胎仔의 生存率을 胎仔總

數에 對한 百分率로 表示하였다. 第1表 및 第1圖에서 보는 바와 같이 正常對照群의 胎仔生存率은 94%였으며 髐重 kg 當 20mg 的 Myleran 을 投與한 群에서는 第6日 投與群이 61%, 第7日 投與群이 71%, 第10日 投與群이 71%, 第11日 投與群이 72%, 第12日 投與群이 82%였으며 髐重 kg 當 30mg 的 Myleran 을 投與한 群에서는 第9日 投與群이 61%, 第10日 投與群이 64%, 第11日 投與群이 71%, 第13日 投與群이 80%였으며 髐重 kg 當 40mg 的 Myleran 을 投與한 群에서는 第9日 投與群이 51%, 第10日 投與群이 52%, 第11日 投與群이 63%, 第12日 投與群이 67%, 第13日 投與群이 67%였다.

正常對照群에 比해 投與群의 胎仔生存率은 낮으나 特히 髐重 kg 當 40mg 的 Myleran 投與群에서는 非常著하며一般的으로 投與量에 比例해서 낮으며 投與時期가 빠를수록 生存率이 낮음을 보여주고 있다.

2. 外形異常

妊娠 第21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 異常의 種類 및 그 出現頻度를 第2表 및 第2圖, 第3表 및 第2圖에 表示하였다. 外形異常으로는 頭部異常, 四肢異常, 眼異常, 尾異常等이 觀察되었다.

體重 kg 當 20mg 的 Myleran 을 1回 經口 投與한 群과 髐重 kg 當 30mg 的 Myleran 을 1回 經口 投與한 群에서는 甚한 外形異常을 볼 수 없었으나 一般的인 發育遲延은 볼 수 있었다.

Table 1. Incidence of Live Fetuses

Groups	Total	Date of Treatment	Doses	No. of Live Fetuses	Dead Fetuses	P.R.
I	49	Control	Control	46(94%)	0	3(6%)
II	38	6th	20mg/kg B. W.	23(61%)	6(24%)	9(20%)
III	35	7th	20mg/kg B. W.	25(71%)	3(9%)	7(20%)
IV	45	10th	20mg/kg B. W.	32(71%)	4(9%)	8(18%)
V	53	11th	20mg/kg B. W.	38(72%)	3(6%)	12(22%)
VI	44	12th	20mg/kg B. W.	36(82%)	5(11%)	3(7%)
VII	71	9th	30mg/kg B. W.	43(61%)	7(10%)	21(30%)
VIII	40	10th	30mg/kg B. W.	26(64%)	3(8%)	11(28%)
IX	34	11th	30mg/kg B. W.	24(71%)	5(15%)	5(15%)
X	40	13th	30mg/kg B. W.	32(80%)	3(8%)	5(13%)
XI	71	9th	40mg/kg B. W.	36(51%)	18(25%)	17(24%)
XII	82	10th	40mg/kg B. W.	43(52%)	21(26%)	18(21%)
XIII	49	11th	40mg/kg B. W.	31(63%)	12(24%)	6(12%)
XIV	48	12th	40mg/kg B. W.	32(67%)	10(21%)	6(12%)
XV	49	13th	40mg/kg B. W.	33(67%)	13(27%)	3(6%)

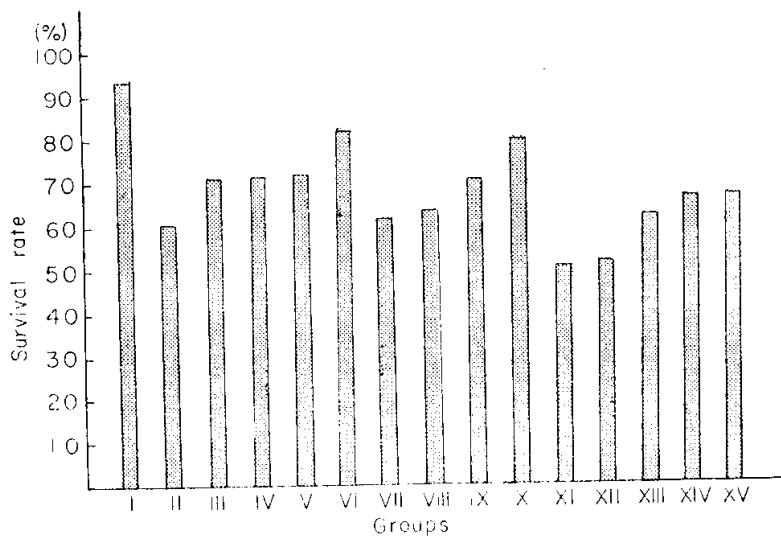


Fig. 1. Incidence of live fetuses of the rat.

體重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 1回 經口 投與한 群에 있어서는 第9日 投與群에서 50%, 第10日 投與群에서 30%, 第11日 投與群에서 35%, 第12日 投與群에서 28%, 第13日 投與群에서 18%의 外形異常을 보였다. 體重 kg 當 20mg 의 Myleran 을 投與한 群과 體重 kg 當 30mg 의 Myleran 을 投與한 群에서 나타나지 않았던 外形異常이 體重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 投與한 群에서 나타났으며 더구나 그 出現率이 높다는 것은 特記할만한 것이다.

以上은 모든 外形異常을 大體的으로 觀察한 結果이었으나 이것을 다시 各種類別로 觀察하면 다음과 같은 結果를 얻을 수 있다. 即 나타난 外形異常을 部位別로 觀察하여 檢討한 結果 尾異常이 가장 높은 出現率을 나타내고 있다.

尾異常은 大部分 短尾 이었으며 다른 種類의 尾異常은 드물었다. 다음으로 出現率이 많은 異常은 四肢異常 및 指異常이었으며 四肢異常으로서는 發育不全, 前肢異常 및 後肢異常인데 特히 海豹狀畸形의 出現은

Table 2. Numbers of Abnormal Fetuses

Groups	n	Date of Treatment	Doses	No. of Malformed Fetuses
I	46	Control	Control	0
II	23	6th	20mg/kg B. W.	0
III	25	7th	20mg/kg B. W.	0
IV	32	10th	20mg/kg B. W.	0
V	38	11th	20mg/kg B. W.	0
VI	36	12th	20mg/kg B. W.	0
VII	43	9th	30mg/kg B. W.	0
VIII	26	10th	30mg/kg B. W.	0
IX	24	11th	30mg/kg B. W.	0
X	32	13th	30mg/kg B. W.	0
XI	36	9th	40mg/kg B. W.	18(50%)
XII	43	10th	40mg/kg B. W.	13(30%)
XIII	31	11th	40mg/kg B. W.	11(35%)
XIV	32	12th	40mg/kg B. W.	9(28%)
XV	33	13th	40mg/kg B. W.	6(18%)

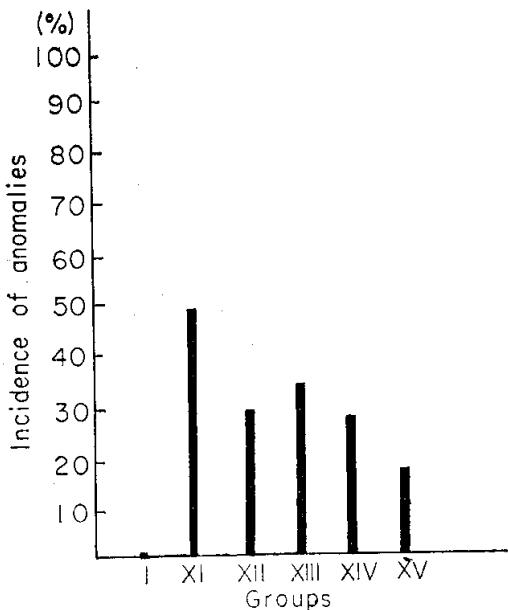


Fig. 2. Incidence of anomalies of the rat fetuses treated with Myleran.

깊은 관심을 끄는例이다. 指異常으로서는 指趾數異常, 欠指 및 指趾癒合이며 特히 指趾癒合의 높은 頻度의 出現은 Myleran을 催畸原으로 使用하였을 때의 特徵이 아닌가 생각한다.

頭部異常은 小頭症과 腦水腫이 많았다.

眼異常의 出現은 海豹狀畸形의 出現과 더불어 Myleran投與時의 特異한 것이며 그 種類는 眼球缺如와 小眼球였다.

口異常은 長口吻가 特色이었다.

또한 胎仔에 있어서 外形異常이 1種에 그치는 例는 少數였으며 大部分의 境遇 數種의 異常을 併伴하고 있었으며 特히 肢異常, 指趾癒合 및 浮腫의 合併症은 特

徵의하였다. 胎仔가 2種以上의 異常을 併伴한 例는 第3表에서 表示한 바와 같다.

3. 生存胎仔의 體重變化

各群의 生存胎仔의 平均體重은 第4表 및 第3圖에 表示하였다.

正常對照群의 胎仔 平均體重 5.350gm에 比하면 體重 kg當 20mg의 Myleran投與群이나 體重 kg當 30mg의 Myleran投與群 및 體重 kg當 40mg의 Myleran投與群에서 다 같이相當한 體重減少를 볼 수 있으며 그 減少率이 體重 kg當 投與量에 比例하였다. 即 體重 kg當 20mg의 Myleran을 投與한 群에서는 第6日 投與群이 4.403gm, 第7日 投與群이 4.797gm, 第10日 投與群이 4.498gm, 第11日 投與群이 4.203gm, 第12日 投與群이 3.599gm이며 體重 kg當 30mg의 Myleran을 投與한 群에서는 第9日 投與群이 3.254gm, 第10日 投與群이 3.139gm, 第11日 投與群이 2.987gm, 第13日 投與群이 3.784gm이며 體重 kg當 40mg의 Myleran을 投與한 群에서는 第9日 投與群이 2.861gm, 第10日 投與群이 2.749gm, 第11日 投與群이 3.103gm, 第12日 投與群이 2.413gm, 第13日 投與群이 2.242gm로서 特히 體重 kg當 40mg의 Myleran을 投與한 群에서는 體重減少의 率은 顯著하다.

4. 胎仔腦의 重量

胎仔腦의 重量은 第5表 및 第4圖에서 表示한 바와 같다. 即 體重 kg當 20mg의 Myleran을 投與한 群에서는 第6日 投與群이 0.227gm, 第7日 投與群이 0.234gm, 第10日 投與群이 0.219gm, 第11日 投與群이 0.207gm, 第12日 投與群이 0.185gm이며 體重 kg當 30mg의 Myleran을 投與한 群에서는 第9日 投與群이 0.157gm, 第10日 投與群이 0.152gm, 第11日 投與群이 0.144gm, 第13日 投與群이 0.179gm이며 體重 kg當 40mg의 Myleran을 投與한 群에서는 第9日 投與群이

Table 3. Incidence of Anomalies of the Rat Fetuses treated with Myleran

Groups	n	Short Tail	Abnormal Eye	Abnormal Head	Abnormal Paw	Abnormal Eye Mouth	Abnormal Paw Tail Mouth	Abnormal Month Tail	Abnormal Tail Paw Digits	Abnormal Tail Digits	Abnormal Head Tail	Abnormal Paw Digits Tail Edema
XI	18	6(33%)	0	—	—	—	2(11%)	—	3(17%)	—	3(17%)	4(22%)
XIII	13	3(23%)	1(8%)	2(16%)	—	—	1(8%)	—	2(16%)	2(16%)	—	2(16%)
XIV	11	0	0	—	—	—	5(45%)	3(27%)	—	—	—	3(27%)
XV	9	0	0	—	1(11%)	—	6(67%)	—	—	2(22%)	—	—
XVI	6	0	0	—	—	—	4(67%)	—	—	—	—	3(33%)

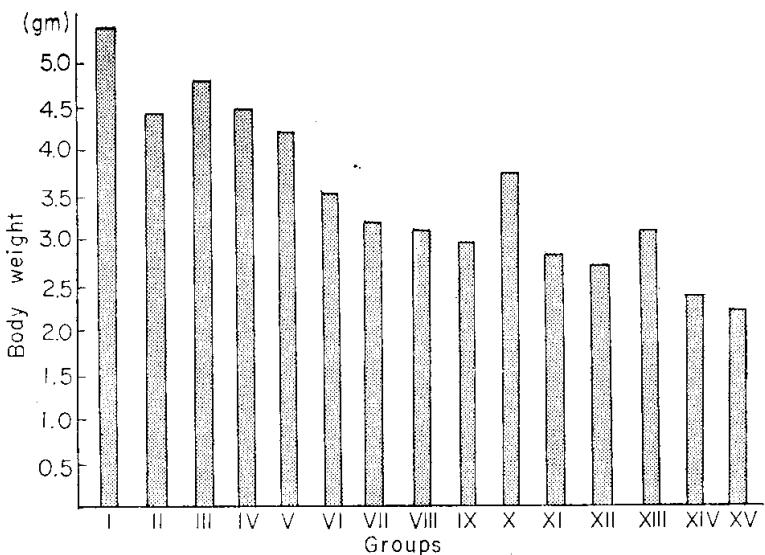


Fig. 3. Average body weight of the rat fetus.

Table 4. Body Weight

Groups	n	Date of Treatment	Doses	M±m(M)	$\sigma \pm m(\sigma)$	V±m(V)
I	46	Control	Control	5.35±0.009	0.04±0.006	0.79 ±0.140
II	23	6th	20mg/kg B. W.	4.40±0.033	0.16±0.024	3.634±0.536
III	25	7th	20mg/kg B. W.	4.80±0.092	0.47±0.066	9.798±1.386
IV	32	10th	20mg/kg B. W.	4.50±0.072	0.41±0.052	9.115±1.139
V	38	11th	20mg/kg B. W.	4.20±0.037	0.23±0.026	5.472±0.628
VI	36	12th	20mg/kg B. W.	3.60±0.118	0.71±0.084	19.756±2.328
VII	43	9th	30mg/kg B. W.	3.25±0.017	0.11±0.012	3.411±0.368
VIII	26	10th	30mg/kg B. W.	3.14±0.078	0.39±0.055	12.679±1.758
IX	24	11th	30mg/kg B. W.	2.90±0.019	0.09±0.003	3.114±0.446
X	32	13th	30mg/kg B. W.	3.78±0.046	0.26±0.038	6.924±0.866
XI	36	9th	40mg/kg B. W.	2.86±0.105	0.63±0.074	22.020±2.595
XII	43	10th	40mg/kg B. W.	2.75±0.099	0.66±0.071	23.827±2.569
XIII	31	11th	40mg/kg B. W.	3.10±0.066	0.37±0.047	18.273±2.321
XIV	32	12th	40mg/kg B. W.	2.41±0.067	0.38±0.047	15.707±1.965
XV	33	13th	40mg/kg B. W.	2.24±0.284	1.63±0.201	72.747±8.954

0.166 gm, 第10日 投與群群이 0.145gm, 第11日 投與群이 0.137gm, 第12日 投與群이 0.104gm, 第13日 投與群이 0.136gm이다. 이 결과를 살펴보면 體重 kg當 20mg의 Myleran을 投與한 群에서는 腦重量의 減少는 크지 않으나 體重 kg當 30mg 및 40mg의 Myleran을 投與한 群에서는 腦重量의 減少率은 높았다.

5. 胎仔腦의 長大長徑

各 實驗群의 胎仔腦의 長大長徑은 第6表 및 第5圖에 表示한 바와 같다. 即 體重 kg當 20mg의 Myleran을 投與한 群에서 第6日 投與群이 1.150cm, 第7日 投與群이 1.156cm, 第10日 投與群이 1.132cm, 第11日 投與群이 1.118cm, 第12日 投與群이 1.147cm이며 體重 kg當 30mg의 Myleran을 投與한 群에서는 第9日 投與群이 1.009cm, 第10日 投與群이 1.002cm, 第11日 投與群이

Table 5. Brain Weight

Groups	n	Date of Treatment	Doses	$M \pm m(M)$	$\sigma \pm m(\sigma)$	$V \pm m(V)$
I	46	Control	Control	0.235±0.006	0.024±0.003	10.213±1.805
II	23	6th	20mg/kg B.W.	0.227±0.005	0.024±0.003	10.573±1.559
III	25	7th	20mg/kg B.W.	0.234±0.005	0.026±0.004	11.111±1.571
IV	32	10th	20mg/kg B.W.	0.219±0.003	0.018±0.002	8.219±1.027
V	38	11th	20mg/kg B.W.	0.207±0.005	0.029±0.003	14.428±1.655
VI	36	12th	20mg/kg B.W.	0.185±0.006	0.037±0.004	20.000±2.357
VII	43	9th	30mg/kg B.W.	0.157±0.004	0.027±0.003	17.197±1.854
VIII	26	10th	30mg/kg B.W.	0.152±0.003	0.017±0.002	11.184±1.551
IX	24	11th	30mg/kg B.W.	0.144±0.019	0.097±0.014	67.361±9.723
X	32	13th	30mg/kg B.W.	0.179±0.004	0.021±0.003	11.732±1.467
XI	36	9th	40mg/kg B.W.	0.166±0.003	0.020±0.002	12.048±1.419
XII	43	10th	40mg/kg B.W.	0.145±0.007	0.043±0.005	29.656±3.198
XIII	31	11th	40mg/kg B.W.	0.137±0.002	0.012±0.001	8.759±1.124
XIV	32	12th	40mg/kg B.W.	0.104±0.008	0.045±0.006	33.269±4.159
XV	33	13th	40mg/kg B.W.	0.136±0.009	0.057±0.007	41.912±5.159

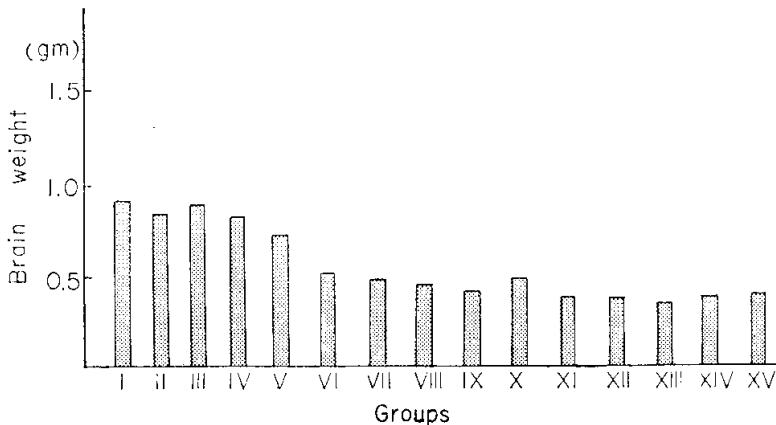


Fig. 4. Average weight of the brain.

0.946cm, 第13日 投與群이 1.011cm이며 體重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 投與한 群에서는 第9日 投與群의 胎仔腦의 最大長徑이 0.703cm, 第10日 投與群이 0.676cm, 第11日 投與群이 0.707cm, 第12日 投與群이 0.666cm, 第13日 投與群이 0.666cm 이다.

이 成績을 分析하면 投與量이 大를 수록 胎仔腦의 最大長徑의 減少率은 높으며 特히 體重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 投與한 群의 胎仔腦 最大長徑의 減少率은 顯著하다.

6. 胎仔腦의 最大幅徑

胎仔腦의 最大幅徑에 關한 研究成績은 第7表 및 第6

圖에 表示한 바와 같다.

體重 kg 當 20mg 의 Myleran 을 投與한 群에서는 第6日 投與群이 0.852cm, 第7日 投與群이 0.841cm, 第10日 投與群이 0.838cm, 第11日 投與群이 0.832cm, 第12日 投與群이 0.784cm이며 體重 kg 當 30mg 의 Myleran 을 投與한 群에서는 第9日 投與群이 0.728cm, 第10日 投與群이 0.748cm, 第11日 投與群이 0.704cm, 第13日 0.711cm, 이며 體重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 投與한 群에서는 第9日 投與群이 0.781cm, 第10日 投與群이 0.726cm, 第11日 投與群이 0.730cm, 第12日 投與群이 0.749cm, 第13日 投與群이 0.751cm 이다. 이들 成

Table 6. Brain Length

Groups	n	Date of Treatment	Doses	M±m(M)	$\sigma \pm m(\sigma)$	V±m(V)
I	46	Control	Control	1.287±0.008	0.033±0.005	2.286±6.404
II	23	6th	20mg/kg B. W.	1.150±0.012	0.059±0.008	5.130±0.756
III	25	7th	20mg/kg B. W.	1.156±0.008	0.044±0.006	3.806±0.583
IV	32	10th	20mg/kg B. W.	1.132±0.009	0.051±0.006	4.505±0.563
V	38	11th	20mg/kg B. W.	1.118±0.004	0.023±0.003	2.057±0.236
VI	36	12th	20mg/kg B. W.	1.147±0.072	0.071±0.008	6.190±0.729
VII	43	9th	30mg/kg B. W.	1.009±0.005	0.035±0.004	3.469±0.374
VIII	26	10th	30mg/kg B. W.	1.002±0.009	0.049±0.007	4.890±0.678
IX	24	11th	30mg/kg B. W.	0.964±0.009	0.044±0.006	4.651±0.671
X	32	13th	30mg/kg B. W.	1.011±0.009	0.048±0.006	4.748±0.594
XI	36	9th	40mg/kg B. W.	0.703±0.007	0.042±0.005	5.974±0.705
XII	43	10th	40mg/kg B. W.	0.676±0.012	0.077±0.008	13.905±1.499
XIII	31	11th	40mg/kg B. W.	0.707±0.008	0.042±0.005	5.941±0.755
XIV	32	12th	40mg/kg B. W.	0.666±0.009	0.079±0.007	5.707±0.963
XV	33	13th	40mg/kg B. W.	0.666±0.012	0.061±0.021	2.742±0.954

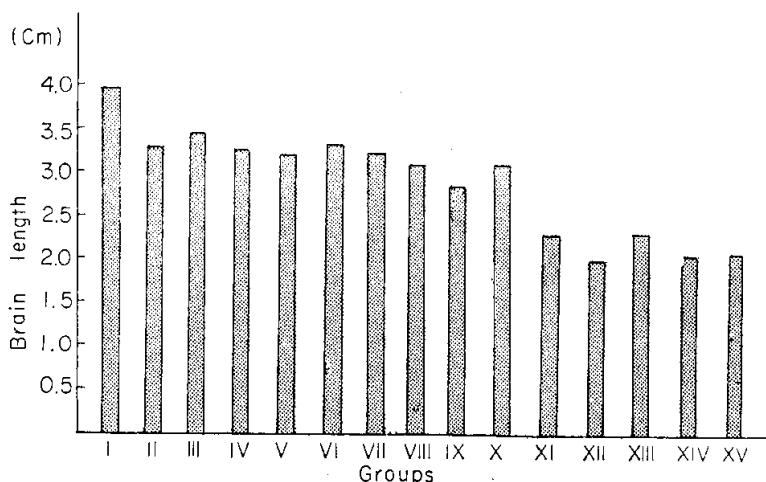


Fig. 5. Brain length of the rat fetuses treated with myleran.

績을 살펴 보면 體重 kg 當 Myleran 的 投與量에 比例하여 어느 程度 段階의인 減少를 보여 주고 있다.

7. 胎仔의(Trans-Umbilical Distance) TUD

胎仔의 CRL 에 關한 結果는 第 8 表 및 第 7 圖에 表示한 바와 같다.

即 體重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 投與한 群만 調査하였는데 第 9 日 投與群이 1.325cm, 第 10 日 投與群이 0.243cm, 第 11 日 投與群이 1.151cm, 第 12 日 投與群이

1.154cm 이다. 이 結果를 分析해 보면 正常對照群 1.416cm 에 比해 投與時期에 따라 段階의인 減少를 보여주고 있다.

8. 胎仔의(Crown-Rump Length) CRL

胎仔의 TUD 에 關한 成績은 第 9 表 및 第 8 圖에 表示한 바와 같다. 이 成績도 體重 kg 當 40mg 의 Myleran 을 投與한 群만 調査하였는데 第 9 日 投與群이 3.915cm, 第 10 日 投與群이 3.019cm, 第 11 日 投與群이 3.103cm,

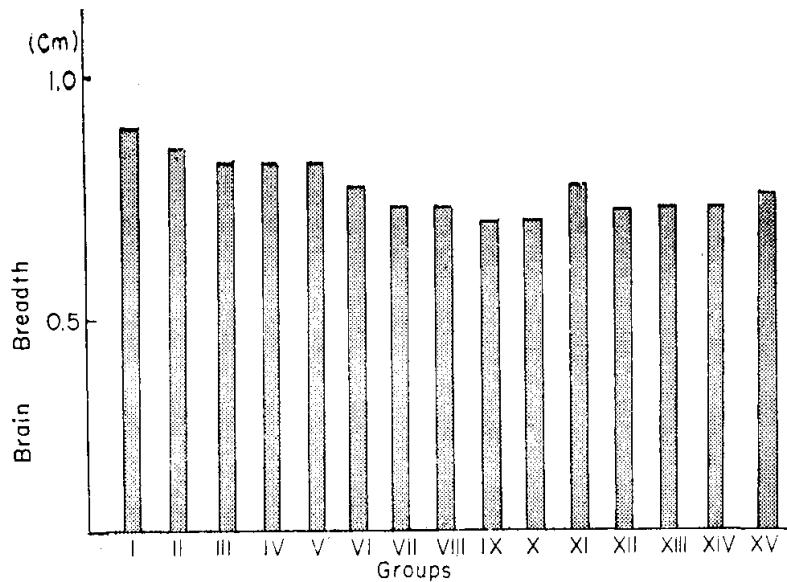


Fig. 6. Brain breadth of the rat fetuses.

Table 7. Brain Breadth

Groups	n	Date of Treatment	Doses	M±m(M)	$\sigma \pm m(\sigma)$	V±m(V)
I	46	Control	Control	0.913±0.010	0.038±0.007	9.689±3.481
II	23	6th	20mg/kg B. W.	0.852±0.013	0.063±0.009	7.394±1.090
III	25	7th	20mg/kg B. W.	0.841±0.014	0.052±0.007	6.183±0.025
IV	32	10th	20mg/kg B. W.	0.838±0.008	0.044±0.005	5.251±0.656
V	38	11th	20mg/kg B. W.	0.832±0.007	0.042±0.005	5.048±0.579
VI	36	12th	20mg/kg B. W.	0.784±0.007	0.041±0.005	5.230±0.616
VII	43	9th	30mg/kg B. W.	0.728±0.006	0.040±0.004	5.495±0.593
VIII	26	10th	30mg/kg B. W.	0.748±0.004	0.021±0.003	2.807±0.389
IX	24	11th	30mg/kg B. W.	0.704±0.006	0.030±0.004	4.261±0.615
X	32	13th	30mg/kg B. W.	0.711±0.008	0.043±0.005	6.048±0.756
XI	36	9th	40mg/kg B. W.	0.781±0.006	0.038±0.004	3.777±0.445
XII	43	10th	40mg/kg B. W.	0.726±0.008	0.058±0.006	5.937±0.640
XIII	31	11th	40mg/kg B. W.	0.730±0.006	0.034±0.004	3.598±0.457
XIV	32	12th	40mg/kg B. W.	0.749±0.005	0.031±0.004	3.344±0.418
XV	33	13th	40mg/kg B. W.	0.751±0.015	0.086±0.011	9.368±1.153

第12日 投與群이 2.997cm, 第13日 投與群이 3.019cm이다.

正常對照群의 胎仔 TUD 와 比較해 볼때 第9日 投與群에서는 別다른 減少를 보여주지 않고 있으나 第10日 第11日, 第12日, 第13日 投與群에서는 顯著한 減少를 보여주고 있다.

9. 黃體數

母體를 開腹하여 胎仔를 摘出한 後에 左右卵巢別 黃

體數를 調査集計한 다음 그 平均值를 算出하여 第 10表에 表示하였다. 正常對照群이나 實驗群에서 差를 거의 볼 수 없었다.

IV. 考 按

惡性疾患 治療劑인 Myleran의 使用範圍가 넓어지면서 거기 따르는 副作用에 關해 많은 研究者들이 關心을

Table 8. TUD(Trans-Umbilical Distance)

Groups	n	Date of Treatment	Doses	$M \pm m(M)$	$\sigma \pm m(\sigma)$	$V \pm m(V)$
I	46	Control	Control	1.416 ± 6.002	0.076 ± 0.001	5.367 ± 1.016
XI	36	9th	40mg/kg B.W.	1.325 ± 0.009	0.052 ± 0.006	3.925 ± 0.463
XII	43	10th	40mg/kg B.W.	1.243 ± 0.008	0.053 ± 0.006	4.518 ± 0.483
XIII	31	11th	40mg/kg B.W.	1.295 ± 0.065	0.092 ± 0.017	6.104 ± 0.775
XIV	32	12th	40mg/kg B.W.	1.151 ± 0.010	0.054 ± 0.007	3.692 ± 0.462
XV	33	13th	40mg/kg B.W.	1.154 ± 0.045	0.61 ± 0.002	2.617 ± 2.784

Table 9. C.R.L (Crown-Rump Length)

Groups	n	Date of Treatment	Doses	$M \pm m(M)$	$\sigma \pm m(\sigma)$	$V \pm m(V)$
I	46	Control	Control	4.056 ± 0.004	0.141 ± 0.003	3.476 ± 0.659
XI	36	9th	40mg/kg B.W.	3.915 ± 0.019	0.111 ± 0.013	3.474 ± 0.393
XII	43	10th	40mg/kg B.W.	3.019 ± 0.021	0.139 ± 0.014	4.604 ± 0.496
XIII	31	11th	40mg/kg B.W.	3.103 ± 0.066	0.367 ± 0.047	8.273 ± 0.321
XIV	32	12th	40mg/kg B.W.	2.997 ± 0.022	0.123 ± 0.015	4.104 ± 0.513
XV	33	13th	40mg/kg B.W.	3.019 ± 0.034	0.198 ± 0.024	6.558 ± 0.807

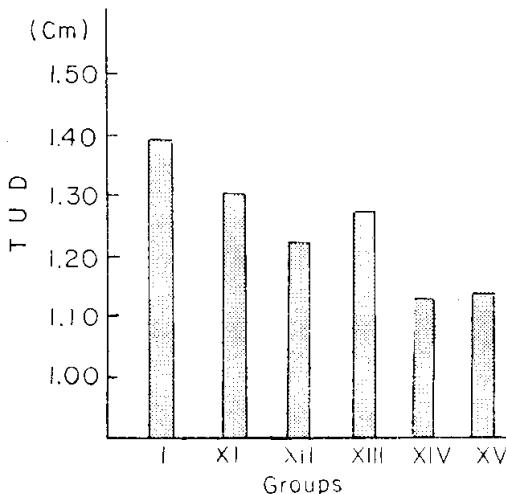


Fig. 7. Trans-umbilical distance of the rat fetuses.

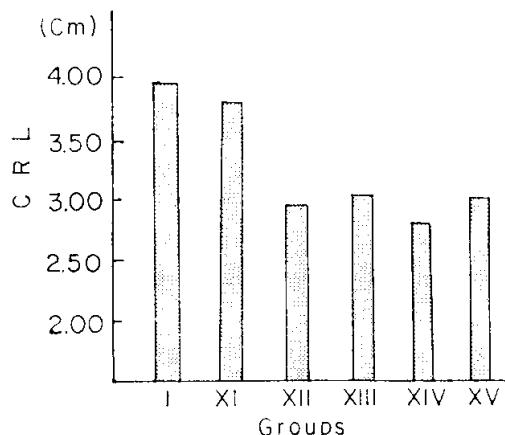


Fig. 8. Crown-rump length of the rat fetuses.

기술에게 되었다. 1955年의 Newson이나 1956年的 Merskey 및 1958年 Cramblett가 白血病과 妊娠에 關한 研究結果를 發表한 以後엔 白血病의 治療劑인 Myleran의 副作用이 많은 學者들의 注意를 끌게 되어 Diamond(1960), Negrini(1967), Machado(1967), Djaldetti(1968), Uhl(1969), Littler(1970), Burns(1970), albrecht(1971), gollerkereri(1971), Kirs-

chner(1971), 등이 臨床治療上의 여러가지 副作用에 關해 研究하는 한편 Kameyama(1965), Forsberg(1966), Alexandrov(1966), Maed(1970), Dunn(1970), Debeljik(1971), Weingarten(1971)등은 實驗動物을 使用하여 Myleran 등에 依한 影響을 研究하였다. 1968年 Jacobson은 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 Myleran

Table 10. The Number of Corpus Luteum

Groups	Date of Treatment	Doses	Left	Right
I	Control	Control	6.4±0.77	6.1±1.02
II	6th	20mg/kg B. W.	5.7±0.47	5.3±0.94
III	7th	20mg/kg B. W.	5.0±1.00	6.3±2.49
IV	10th	20mg/kg B. W.	4.7±1.29	6.3±1.25
V	11th	20mg/kg B. W.	5.6±1.70	7.3±1.25
VI	12th	20mg/kg B. W.	6.0±2.16	6.0±1.00
VII	9th	30mg/kg B. W.	6.0±0.83	6.7±2.05
VIII	10th	30mg/kg B. W.	5.0±1.64	5.0±1.92
IX	11th	30mg/kg B. W.	4.3±2.87	6.0±0.82
X	13th	30mg/kg B. W.	5.0±1.63	7.0±2.16
XI	9th	40mg/kg B. W.	7.0±1.63	7.0±0.82
XII	10th	40mg/kg B. W.	5.3±0.85	4.3±1.48
XIII	11th	40mg/kg B. W.	5.7±1.21	6.0±0.82
XIV	12th	40mg/kg B. W.	6.0±1.41	6.7±1.25
XV	13th	40mg/kg B. W.	4.3±1.30	5.0±1.41

投與量 妊娠 第6日에서 第13日까지로 定한 것은 器官形成期를 參考로 한 것이며 首末前期의 末期에서 器官形成期를 거쳐 胎仔期의 極初期에 이르는 동안의 "Critical period"를 調査하기 위한 것이다.

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 種類를 斷定하기는 어려우나 本實驗의 條件과 時期로서는 第2表, 第3表 및 第2圖에 表示한 바와 같이 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 分類觀察하였다.

勿論 우리가 어떤 藥의 生物學의 영향을 體重當의 條件을 基礎로 하여 여러 動物끼리 서로 比較하기란 어렵다. 왜나하면 例를 들어 쥐에 있어서 害 없는 分量의 Myleran이 사람에게 致死量이 될 수 있으며 母體에는 全然 害가 없는 分量도 胎仔에겐 有毒할 수 있고 催崎原으로 作用할 수 있다. Myleran을 投與한 本實驗結果를 보면 體重 kg當 20mg의 投與나 體重 kg當 30mg의 投與群에서는 全然 外形異常은 볼 수 없었고 단지 發育遲延만 보였으나 體重 kg當 40mg의 投與群에서 갑자기 外形異常의 出現率이 높아져서 第9日 投與群에서 50%, 第10日 投與群에서 30%, 第11日 投與群에서 35%, 第12日 投與群에서 28%, 第13日 投與群에서 18%의 出現率을 보여 投與時期가 빠를 수록 催崎效果가 큼을 나타내고 있다. 특히 第9日 投與群에서의 50% 出現率은 Myleran이 強力한 催崎原임을 暗示하고 있다. 第3表에 表示된 바를 보면 外形異常이 하나만 出現한

例보다 2種類 또는 3種類 또는 그 以上의 外形異常이 併伴하는 境遇가 오히려 많는데 이는 Myleran을 催崎原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의이며 無眼球症의 出現은 特記할만한 結果라 아니 할 수 없다. 尾異常에서는 短尾가 절대 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 하였는데 本實驗에서는 그 原因을 究明하지 않았다. 여기에 나오는 短尾는 거이 無尾에 가까운 短尾였다. 頭部異常도 浮腫을 併伴한 境遇外는 거이 小頭症이 特徵의 이었는데 發育遲延과 併伴된 例가 많음을 보면 이는 腦의 發育에 영향이 없는 發育遲延은 生後 比較的 正常의 인 發育을 할 수 있다는 說에 따르면 Myleran 投與에 依한 發育遲延은 腦에 영향을 주는 例가 많음을 보인다. 나타난 外形異常 가운데서 突出口吻도 特記할 例라 아니할 수 없다.

生存胎仔의 體重變化는 第4表 및 第3圖에 表示한 바와 같이 Myleran의 投與量에 比例해서 減少함을 보여 주고 있으며 投與時期가 늦을수록 體重이 減少하고 있음을 보인다. 正常對照群에 比해 體重 kg當 40mg 投與群의 體重減少는 顯著한 것이다.

胎仔腦의 重量은 體重 kg當 20mg의 Myleran을 投與한 群에서는 第12日의 投與群을 除外하면 有意한 變化는 보이지 않고 있으나 體重 kg當 30mg 投與群이나 體重 kg當 40mg의 投與群에서는 段階의 減少를 보여 주고 있다. 即 器官形成期에서는 投與時期가 늦을

수록 腦重量의 減少率이 높아짐을 볼수 있는데 이는 腦形成時期와 깊은 關連이 있는것 같다. 體重 kg當 10mg의 Myleran을 投與한 群을 例로 들면 正常對照群의 0.235gm에 比해 第9日 投與群이 0.166gm이며 第13日 投與群이 0.136gm으로서 顯著한 減少와 段階性을 보여 주고 있다.

胎仔腦的最大長徑은 第6表 및 第5圖에 表示하였는데 正常對照群의 1.237cm에 比하면 體重 kg當 20mg 投與群이나 體重 kg當 30mg 投與群이나 體重 kg當 40mg의 投與群에서 다 같이 有意한 減少를 보여주고 있으나 이도 投與量에 比例해서 또한 投與時期가 늦어짐에 따라 段階의 減少를 보여 주고 있다.

胎仔腦의 長大幅徑에 關한 實驗結果는 第7表 및 第6圖에 表示하였다. 그 結果를 살펴보면 胎仔腦의 長大長徑에서와 마찬가지로 體重 kg當 20mg의 投與群에서는 體重 kg當 30mg의 投與群과 體重 kg當 40mg의 投與群보다는 낮은 減少率을 보여 주고 있으나 體重 kg當 30mg의 投與群과 體重 kg當 40mg의 投與群사이엔 別로 差異가 없었다.

胎仔의 TUD(Trans-Umbilical Distance)는 第8表 및 7圖에 表示하였다. 이는 體重 kg當 40mg의 投與群에 서만 調查集計하였다. 이는 白鼠에서는 3gm未滿의 것을 發育遲延으로 여길 수 있어 主로 發育遲延으로 잔주 할 수 있는 體重未達白鼠가 생긴 群을 擇하여 調査集計한 것이다. 이 成績을 보면 正常對照群의 値가 1.416cm인데 比해 第13日 投與群에선 1.154cm의 顯著히 減少된 値를 보여 주고 있다.

胎仔 CRL(Crown-Rump Length)에 關한 成績은 第9表 및 第8圖에서 보이는 바와 같다. 이 成績도 胎仔 TUD에서와 마찬가지로 體重 kg當 40mg의 投與를 한 群에서만 集計調査하였는데 이도 같은 理由에서였다. 正常對照群의 4.056m에 比해 投與群에서는 顯著한 減少를 보여주고 있다.

胎仔의 總數는 生存胎仔數, 死亡 및 浸軟胎仔數, 殘存胎盤數를 全部 合한 數로 하였으며 여기서 보면 正常群對照의 胎仔生存率 94%에 比해 體重 kg當 40mg의 投與群에서 第9日 投與群이 51%로서 가장 낮으며一般的으로 投與量이 많을 수록 投與時期가 빠를수록 胎仔生存率이 낮은 成績을 보여 주고 있다.

第10表에서 表示한 黃體數를 보면 黃體數가 催畸原의影響을 받은 흔적은 없다.

V. 結論

著者는 Myleran이 發生中의 白鼠胎仔에 미치는 影響을 研究코자 Sprague-Dawley系 白鼠를 使用하여 婦娠白鼠에 Myleran을 1回 經口 投與하여 觀察하였는데 投與量과 投與時期에 따라 15群으로 나누었다.

妊娠 第21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, 脳의 무게, 脳의 最大長徑, 脳의 最大幅徑, TUD, (Trans-Umbilical Distance) 胎仔의 CRL, (Crown-Rump Length) 生存率 및 黃體數를 調査하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Myleran 投與時는 體重 kg當 40mg의 投與群에서만 外形異常이 나타나는데 頭部異常, 四肢異常, 指異常, 尾部異常, 眼異常을 볼 수 있고 浮腫이 併伴한 것 이 特異하다. 第9日 投與群에서 50%의 外形異常을 나타내었는데 이는 Myleran이 強力한 催畸原임을 말해 주고 있다. 外形異常의 發生頻度는 投與時期가 빠를수록 높았다. 尾異常이 가장 높은 發生率을 보여 주었으며 다음이 四肢異常, 指異常의 順이었는데 大部分의 境遇 數種의 異常을 併伴하고 있다.

2. 生存胎仔의 體重變化는 모든 群에서相當한 體重減少를 보여주고 있었는데 投與量과 投與時期에 따라 段階의 減少를 보여주고 있다.

3. 體重 kg當 20mg의 Myleran을 投與한 群에서는 腦重量의 減少는 크지 않으나 體重 kg當 30mg 및 40mg의 投與群에 있어서는 腦重量의 減少率은 높았다.

4. 投與量이 많을 수록 胎仔腦의 最大長徑의 減少率은 높으며 特히 體重 kg當 40mg의 Myleran을 投與한 群의 胎仔腦의 最大長徑의 減少率은 顯著하다.

5. 胎仔腦의 最大幅徑은 體重 kg當 Myleran의 投與量과 投與時期에 따라 段階의 減少를 보여주고 있다.

6. 胎仔의 TUD는 體重 kg當 40mg의 Myleran을 投與한 群만 調査하였는데 投與時期가 빠를 수록 높은 減少率을 보여주고 있다.

7. 胎仔의 CRL는 體重 kg當 40mg의 投與群만 調査하였는데 第9日 投與群에서는 別다른 減少를 보여 주지 않았는데 第10日, 第11日, 第12日, 第13日 投與群에서는 顯著한 減少를 보여 주고 있다.

8. 胎仔生存率은 實驗群에서는 모두 낮으나 特히 體重 kg當 40mg의 投與群에서는 顯著히 낮으며 投與時期가 빠를 수록 生存率은 낮다.

9. 黃體數는 Myleran 投與와는 無關하다.

ABSTRACT

The Effect of Myleran on Developing Rat Fetuses

Byung Woo Choi, Kwang Ho Lee

Department of Anatomy, College of Medicine,
Seoul National University

Sprague-Dawley strain rats were administered orally once with the dose of Myleran 20mg/kg, body weight on the 6th, 7th, 10th, 11th, 12th day of gestation and with the dose of Myleran 30mg/kg, body weight on the 9th, 10th, 11th, 13th day of gestation and with the dose of myleran 40mg/kg body weigh on the 9th, 11th, 12th, 13th day of gestation.

Gross anomalies in the fetuses, weigh, 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, and crown rump length and transumbilical distance were studied after hysterectomy on the 21st day of gestation and the following results were obtained.

1. The gross anomalies were appeared only in the groups administered with the dose of myleran 40mg/kg body weight and those were short tail, growth retardation microcephalus, hydrocephalus, micromelia, growth retardation of the limb, abnormal number of digits, syndactyli, anophthalmia 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 charataristic. The 9th day of gestation seemed to be the most susceptible to the effect of the administration of Myleran.

2. Significant change of fetal body weight came out in the result of the all groups treated with the administration of the Myleran, and in the later administration groups, the more obvious decrease of body the fetal weight were observed.

3. Weight of the brain occured little changes in the group which was administered with the dose of 20mg/kg body weight, but gradual decrease of the weight appeared in the other groups. And notable

decrease resulted in the group which was administered with the dose of 40mg/kg body weight.

4. Obvious reduction 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 brain was observed in proportion to the doses and according to the days of gestation treated with Myleran.

6. Trans-umbilical distances were observed only in the group which administered with the dose of 40mg/kg body weight, and the reduction of the distance was gradual in accordance with the date of administration.

7. Crown-rump length was measured only in the groups of 40mg/kg body weight. No significant change of CRL was observed at the group which received administration of Myleran on the 9th day of gestation, but gradual reductions were occurred in the other groups.

8. Most obvious decrease of the survival rate was observed in the group of 40mg/kg body weight.

Gradual decrease of the survival rate was in inverse accordance with days of gestation.

9. Numbers of the corpus luteum were not effected by the administration of the Myleran.

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-mercaptopurine*. *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, 1658.
4. Diamond, I., Anderson, M. M., and McCreadie, S. R.: *Transplacental Transmission of Busulfan (Myleran) in a mother with Leukemia: Production of Fetal Malformation and Cytomegaly*. *Pediatrics* 25:85-90. 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. Negrin, 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 *Unio.* 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 musculoskeletal 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.



Fig. 9. Normal rat fetus



Fig. 10. Micromelia, syndactylia, short tail, anophthalmia and edema



Fig. 11. Growth retardation and abnormal mouth



Fig. 12. Anophthalmia and abnormal paw



Fig. 13. Fused hind paw



Fig. 14. Hydrocephalus and anophthalmia

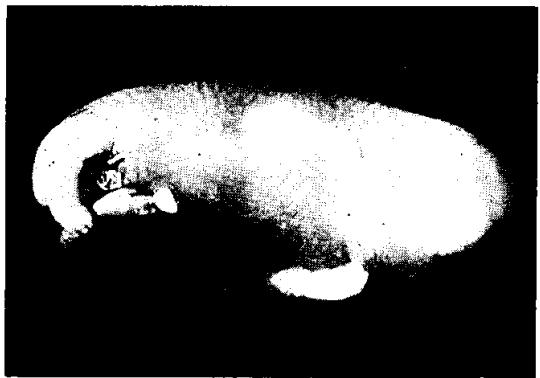


Fig. 15. Short tail, abnormal paw and edema



Fig. 16. Short tail and abnormal paw



Fig. 17. Abnormal paw



Fig. 18. Short tail and syndactylia